

SÉRIE A, N° 1387

N° D'ORDRE :

2252

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel VOLKONSKY

LABORATOIRE DE PROTISTOLOGIE DE L'INSTITUT PASTEUR

1^{re} THÈSE. — DIGESTION INTRACELLULAIRE ET ACCUMULATION DES COLO-
RANTS ACIDES (ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES CELLULES SAN-
GUINES DES SIPUNCULIDÉS).

2^e THÈSE. — SUR LES CONDITIONS DE CULTURE ET LE POUVOIR DE SYN-
THÈSE DE *Saprolegnia* SP. ÉTUDE QUALITATIVE DE
L'ALIMENTATION CARBONÉE, AZOTÉE ET SULFURÉE.

Soutenues le 16 février 1933 devant la Commission d'examen.

Président : MM. CAULLERY.

Examineurs { WINTREBERT.
GUILLIERMOND.

PARIS

Édition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
405, Boulevard Raspail

1933

SÉRIE A, N° 1387

N° D'ORDRE :

2252

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel VOLKONSKY

LABORATOIRE DE PROTISTOLOGIE DE L'INSTITUT PASTEUR

1^{re} THÈSE. — DIGESTION INTRACELLULAIRE ET ACCUMULATION DES COLO-
RANTS ACIDES (ETUDE CYTOLOGIQUE DES CELLULES SAN-
GUINES DES SIPUNCULIDÉS).

2^e THÈSE. — SUR LES CONDITIONS DE CULTURE ET LE POUVOIR DE SYN-
THÈSE DE *Saprolegnia* SP. ETUDE QUALITATIVE DE
L'ALIMENTATION CARBONÉE, AZOTÉE ET SULFURÉE.

Soutenues le février 1933 devant la Commission d'examen.

Président : MM. CAULLERY.

Examineurs { WINTREBERT.
 GUILLIERMOND.

PARIS

Édition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

—
1933

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... G. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyen honoraire.... M. MOLLIARD.

Profess. honoraires. { H. LE CHATELIER.

EMILE PICARD.

H. LEBESGUE.

RÉMY PERRIER

A. FERNBACH.

LÉON BRILLOUIN.

A. LEDUC.

A. DEREIMS.

E. GOURSAT..... Analyse supérieure et algèbre supér.

P. JANET..... Electrotechnique générale.

F. WALLERANT... Minéralogie.

P. PAINLEVÉ..... Mécanique anal. et mécanique céleste.

M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés)

EMILE BOREL..... Calcul des probabilités et phys. mathém.

H. ABRAHAM..... Physique.

M. MOLLIARD..... Physiologie végétale.

E. CARTAN..... Géométrie supérieure.

GABRIEL BERTRAND Chimie biologique.

JEAN PERRIN..... Chimie physique.

L. LAPICQUE..... Physiologie générale.

M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.

G. URBAIN..... Chimie générale.

L. MARCHIS..... Aviation.

E. VESSIOT..... Théorie des fonct. et théorie des transf.

A. COTTON..... Physique générale.

J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.

CHARLES FABRY... Physique.

R. LESPIEAU..... Théories chimiques.

P. PORTIER..... Physiologie comparée.

CHARLES PÉREZ... Zoologie.

Professeurs E. BLAISE..... Chimie organique.

P.-A. DANGEARD.. Botanique.

LÉON BERTRAND.. Géolog. structurale et géolog. appliquée.

E. RABAUD..... Biologie expérimentale.

G. JULIA..... Calcul différentiel et calcul intégral.

PAUL MONTEL..... Mécanique rationnelle.

V. AUGER..... Chimie appliquée.

P. WINTREBERT.. Anatomie et histologie comparées.

O. DUBOSCQ..... Biologie maritime.

EUGÈNE BLOCH... Physique théorique et phys. céleste.

N..... Etude des combustibles.

L. LUTAUD..... Géogr. physique et géol. dynamique.

HENRI VILLAT... Mécanique des fluides et applications.

CH. JACOB..... Géologie.

P. PASCAL..... Chimie minérale.

E. ESCLANGON... Astronomie.

H. BENARD..... Mécanique expérimentale des fluides.

C. MAUGUIN..... Minéralogie.

L. BLARINGHEM.. Botanique.

A. GUILLIERMOND. Botanique (P. C. N.).

A. DENJOY..... Mathématiques générales.

A. DUFOUR..... Physique (P. C. N.).

H. BÉGHIN..... Mécanique physique et expérimentale.

De BROGLIE..... Théories physiques.

E. PÉCHARD..... Chimie (Ens. P. C. N.).

A. GUILLET..... Physique.

M. GUICHARD... Chimie minérale.

A. MICHEL-LEVY Pétrographie.

H. MOUTON..... Chimie physique.

L. DUNOYER..... Optique appliquée.

M. JAVILLIER... Chimie biologique.

ROBERT-LÉVY... Zoologie.

A. DEBIERNE... Radioactivité.

E. DARMOIS..... Physique.

G. BRUHAT..... Physique.

F. PICARD..... Zool. (Év. êtres org.)

L. JOLEAUD... Paléontologie.

M. FRECHET... Calcul des probab.

et phys. math.

M^{me} RAMART-LUCAS Chimie organ.

FOCH..... Méc. exp. des fluides.

PAUTHENIER..... Physique (P. C. N.).

VILLEY..... Méc. phys. et expér.

LABROUSTE..... Physique du Globe.

FREUNDLER..... Chimie (P. C. N.).

PRENANT..... Zoologie.

P. JOB..... Chimie générale.

CHRETIEN..... Optique appliquée.

G. BOHN..... Zoologie (P. C. N.).

R. COMBES..... Sc. Natur. (P. C. N.).

GARNIER..... Méc. Rationnelle.

PERES..... Méc. des fluides.

LAUGIER..... Physiologie générale.

TOUSSAINT..... Techn. aéronautique.

HACKSPILL..... Chimie (P. C. N.).

Secrétaire.....

A. PACAUD

Secrétaire honoraire...

D. TOMBECK

DIGESTION INTRACELLULAIRE ET ACCUMULATION DES COLORANTS ACIDES

Etude cytologique des cellules sanguines des Sipunculidés

(2 figures dans le texte et 6 planches)

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	136
Technique	137
1. LES ÉLÉMENTS FIGURÉS DU SANG DES SIPUNCULIDÉS.	
<i>Description cytologique</i> : Les hématies. — Les vésicules énigmati- ques. — Les leucocytes	145
<i>Questions générales</i> : Les lépidosomes des macrophages. — Distri- bution des histolipoïdes. — Accumulation des lipoides aux interfaces. — Les lames hyaloplasmiques et leur maintien. — Le facteur capillaire de l'étalement et de la phagocytose. — Génèse et constitution des grains spécifiques. — « Granula », « vacuoles » et « vacuome ». « Progastrioles » et « gastrioles ».	154
<i>Conclusions</i>	175
2. LA PHAGOCYTOSE.	
<i>Introduction</i> : Protozoaires. — Métazoaires.	176
<i>Description de la phagocytose des amibocytes des Sipunculidés</i> : Réaction des amibocytes à l'ingestion de particules étrangères.	179
<i>Aspect cytologique de la digestion intracellulaire</i> : Protozoaires. — Métazoaires. — Remarque. — Réaction vacuolaire. — Valeur physiologique de la réaction vacuolaire. — Réaction chondrios- omique. — La question de l'intervention nucléaire.	185
<i>Digestion intra- et extracellulaire.</i>	195
<i>Conclusions</i>	197
3. ACCUMULATION DES COLORANTS ACIDES.	
<i>Introduction</i> : Colloïdopexie et chromopexie. — Données actuelles sur le mécanisme de la chromopexie. — Hypothèse du rôle « emba- tique » des substances vectrices	198

	Pages
<i>Etude de la chromopexie des amibocytes in vitro : Expériences préliminaires. — Partie expérimentale. — Description cytologique.</i>	204
<i>Conclusions</i>	221
<i>Considérations générales : Aspect cytologique de la chromopexie. — Chromopexie et perméabilité. — Chromopexie et phagocytose.</i>	223
<i>Conclusions</i>	234
4. HYPOTHÈSES RELATIVES A QUELQUES QUESTIONS DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE.	
<i>La nature du vacuome : Signification des caractères morphologiques du vacuome. — Hypothèse du « vacuome-siège de ferments ». — Le vacuome à la lumière de la théorie électrostatique des colorations. — La genèse des éléments du vacuome. Le crinome. — Essai d'une idée d'ensemble sur le vacuome</i>	235
<i>Chondriome et vacuome comme lieux de ségrégation</i>	257
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	263

INTRODUCTION

S'il y a exactement cinquante ans que E. METCHNIKOFF a créé le terme de « phagocytose », l'étude cytologique des phénomènes qui succèdent à l'ingestion d'une particule étrangère par un phagocyte n'a été entreprise jusqu'ici que dans des cas isolés. Cependant, à l'heure actuelle, il est possible de se faire une idée d'ensemble de l'aspect cytologique de la digestion intracellulaire.

Nous avons choisi les cellules sanguines des Sipunculidés comme principal objet de travail, aussi faisons-nous précéder l'étude de la phagocytose par la description cytologique de ces éléments.

Une revue des travaux antérieurs et une série d'observations nouvelles sur des Protozoaires et des cellules phagocytaires nous permettra d'établir un schéma général de la réaction cellulaire à l'ingestion d'une particule.

L'étude de l'accumulation intracellulaire des colorants acides nous conduira à comparer ce phénomène à la phagocytose.

L'ensemble de ces données nous permettra d'envisager certaines questions de physiologie cellulaire à un point de vue nouveau.

Nos travaux, commencés au Laboratoire d'Anatomie Comparée de la Sorbonne, ont pu être poursuivis ensuite au Laboratoire de Protistologie de l'Institut Pasteur, grâce à une bourse de recherches de l'Association pour l'Extension des Etudes Pastorienues. Nous tenons à remercier nos Maîtres pour l'aide spirituelle et matérielle qu'ils nous ont accordée au cours de l'exécution de ce travail.

Nous remercions également l'Administration des Stations Maritimes de Roscoff, de Banyuls et de Villefranche pour l'aimable accueil que nous avons toujours trouvé dans ces Laboratoires.

Technique.

C'est à l'école du docteur M. PARAT que nous nous sommes initié à la technique microscopique ; et ce sont les procédés appliqués par cette école qui nous ont servi de base et de point de départ. Une partie de ces techniques a été publiée dans les « Conférences de Technique Histologique et Cytologique (éd. R. Guillon, Paris) de Parat (30). Nous nous bornerons ici à indiquer quelques modifications que nous avons adoptées dans des cas particuliers.

a) Examen sur le vivant.

Ces examens ont été effectués autant que possible en gouttes pendantes au-dessus de lames creuses. Toutes les fois que c'était possible, la lumière naturelle a été substituée à la lumière artificielle (des nuages blancs du côté Nord conviennent le mieux).

Quand la nécessité s'imposait d'effectuer sur la même cellule une série d'examens à intervalles réguliers, entre deux examens successifs, le microscope était toujours recouvert d'un linge sombre afin de réduire au minimum l'effet nocif de la lumière.

Un procédé spécial a servi à la contention dans le champ du microscope de Protozoaires très mobiles au cours d'examens prolongés ⁽¹⁾ : on pratique des coupes, aussi fines que possible, dans des tronçons de moelle de sureau avec un rasoir à main levée. Ces coupes sont plongées dans le liquide destiné aux examens vitaux et le tout est mis dans un tube à essais et stérilisé à l'autoclave pour chasser les bulles d'air emprisonnées.

On peut conserver ainsi une collection de tubes à essais, contenant des

(1) Dans le même but, MÉTALNIKOFF ⁽¹²⁾ examine des Infusoires isolés dans de très petites gouttes d'eau, en chambre humide. Mais des gouttes, assez petites pour permettre aisément des examens avec des objectifs à immersion, se dessèchent facilement ; de plus, les Infusoires ont tendance à se coincer dans l'angle dièdre qui limite la goutte, ce qui leur est fatal. NIERENSTEIN ⁽⁰⁵⁾ profite du thigmotactisme des Infusoires, en vertu duquel ces organismes peuvent rester parfois pendant longtemps collés à des particules inertes présentes dans la préparation. Nous ne pouvons que rendre hommage à la patience extraordinaire du savant allemand, vertu que nous regrettons de ne pas partager avec lui.

coupes de sureau dans différents milieux d'examen. Le moment venu, on dépose sur la lamelle une petite goutte de la culture à examiner et, par dessus, une coupe de sureau rapidement égouttée. Il faut éviter d'emprisonner des gouttes d'air, ce qui est une question d'habitude. L'excès de liquide est éliminé avec un buvard et tout le système est renversé sur une lame creuse vaselinée. Un certain nombre d'Infusoires se trouvent captés dans les cellules de la moelle de sureau, contre la lamelle. Chaque individu se trouve alors emprisonné dans une cage de l'ordre de grandeur du champ d'un objectif à immersion, et si de cette cage parfois il s'échappe, c'est pour être pris dans la voisine. Avec des coupes minces, d'épaisseur bi- ou tricellulaire, nous n'avons jamais constaté de phénomènes asphyxiques chez les Infusoires.

Dans le cas d'éléments ayant la propriété d'adhérer au verre (Amibes, amibocytes), nous avons largement utilisé cette propriété. A cet effet le liquide contenant les éléments intéressants (culture, liquide cœlomique) est déposé sur des lamelles et le tout conservé en chambre humide pendant un temps suffisant pour que la fixation ait lieu (1 heure, environ, pour les amibocytes). Alors les lamelles, débarrassées du liquide en excès, sont renversées sur des lames creuses *embuées*. Ces lamelles servent également pour les colorations vitales et les fixations.

Phagocytose. — Nous indiquerons quelques détails concernant deux cas seulement :

a) Pour l'étude de la phagocytose des choanocytes, les Eponges ⁽¹⁾ sont placées en présence de suspensions dans une fiole dont le bouchon est traversé par deux tubes : l'un plonge légèrement dans le liquide par son extrémité, l'autre est en communication avec une trompe à eau, de façon à établir dans la fiole à la fois un barbotage d'air et de légers courants de convection qui empêchent la sédimentation des particules. Les Eponges témoins sont placées dans des fioles semblables contenant de l'eau de mer pure. De nombreuses fioles peuvent être montées en série sur une même trompe à eau.

b) Pour l'étude de la phagocytose *in vitro* des amibocytes d'Invertébrés (Sipunculidés, Bonellie), nous avons eu recours au pouvoir adhésif de ces cellules. Le liquide cœlomique additionné de suspensions est déposé sur des lamelles que l'on conserve ensuite en chambre humide. En moins d'une journée le liquide cœlomique devient rarement le siège d'une prolifération bactérienne manifeste ; une simple propreté dans les manipulations (flambage de la verrerie) suffit pour des expériences de moins de 8 heures. Dans les expériences de plus longue durée, il faut opérer aseptiquement. Pour cela on dispose au fond d'un tube à hémolyse 5 ou 6 lamelles de 22 × 5 millimètres. Le tube, bouché au coton, est ensuite stérilisé à sec. Le liquide cœlomique à étudier (prélevé aseptiquement) est alors introduit dans le tube et additionné d'une suspension également stérile. Enfin, à l'aide d'un fil de

(1) Conservées en aquarium dans une eau fraîche, courante et aérée et à l'abri de la lumière directe.

platine flambé, on dispose les lamelles le long de la paroi du tube, de façon à ce que le liquide monte par capillarité entre la paroi concave du tube et les lamelles. Les lamelles chargées de leucocytes en voie de phagocytose sont retirées et examinées à temps voulu.

b) Colorations vitales et postvitales.

Parmi les colorants vitaux du vacuome, nous avons surtout utilisé le rouge neutre (Microcolor). Le bleu de crésyle brillant (Grübler) fournit souvent une polychromie précieuse pour l'identification de certaines catégories cellulaires. Le brun Bismarck (Grübler) n'a été utilisé que dans les cas où l'emploi d'un colorant rouge ou bleu était prohibé (par exemple, pour l'étude du virage intracellulaire des grains de tournesol phagocytés en fonction de leur envacuement). Enfin, le bleu de toluyène (B. D. H.) est d'un emploi pratique dans les cas où le vacuome est invisible sans coloration et facilement altéré : le rouge neutre tend à produire avant tout un gonflement des vacuoles préexistantes ; au contraire, le bleu de toluyène ne modifie pas l'aspect des éléments du vacuome, mais tend à provoquer la formation de vacuoles nouvelles ; on peut alors, par élimination, reconstituer l'aspect véritable du vacuome.

La coloration vitale des animaux marins est souvent rendue difficile à cause de la faible solubilité d'un grand nombre de colorants dans l'eau de mer. Le bleu de crésyle brillant et le brun Bismarck ne présentent pas cet inconvénient. Au contraire, le rouge neutre, le bleu de Nil, le bleu de toluyène ainsi que les meilleurs parmi les colorants acides (trypanobleu, « Neuvi-talrot ») demandent des précautions spéciales. A vrai dire, on peut souvent diluer les solutions aqueuses concentrées avec de l'eau de mer ; mais comme il est préférable d'opérer en milieu exactement isotonique, nous préconisons le procédé suivant : un stock de cupules contenant chacune n centimètres cubes d'eau de mer sont abandonnées à la dessiccation à l'abri de la poussière. Au moment de l'emploi, on y verse n centimètres cubes de la solution de colorant dans l'eau distillée. Le dépôt salin se redissout instantanément. Ajoutons que le bleu de toluyène s'altère, même en solution dans l'eau distillée ; cette solution doit donc être elle-même préparée au moment de l'emploi. On peut, enfin, pour les colorants basiques, se servir de leurs solutions alcooliques, que l'on étale et laisse sécher sur les lames (suivant la méthode de Hall). Ce procédé rapide permet moins bien de doser les colorations.

Le vert Janus B de Höchst a seul été utilisé comme colorant post-vital du chondriome. Son action a presque toujours été associée à celle du rouge neutre. Le plus souvent nous procédons de la façon suivante : nous préparons deux solutions, l'une de rouge neutre, l'autre de vert Janus, chacune à 0,05 o/o dans l'alcool à 95°. Ces solutions sont ensuite mélangées en proportions variables et étendues sur lames. Les proportions optima du mélange

correspondent à 1 partie de rouge neutre pour 4 parties de vert Janus dans le cas des Eponges, pour 5-6 parties dans le cas des éléments sanguins des Sipunculidés. Notons enfin qu'il faut éviter la réduction du vert Janus par les tissus (voir PARAT, 1928, p. 311), ce pourquoi la présence de bulles d'air emprisonnées entre la lame et la lamelle est favorable à la coloration, lorsqu'on n'opère pas en goutte pendante.

Nous parlerons plus loin (pp. 205, 213 et suivantes) du mode d'emploi des colorants acides.

c) Fixation des colorations vitales.

La fixation des cellules ayant accumulé des colorants acides n'offre aucune difficulté. Il en est tout autrement dans le cas de colorants basiques. Notons que la fixation des colorations vitales n'occupe pas une place de premier ordre parmi les problèmes importants de la cytologie, étant donné qu'elle enlève à ces colorations leur caractère le plus précieux : celui de s'adresser à des cellules vivantes. Pourtant, par la possibilité de rendre permanentes des préparations à intérêt documentaire et dans certains cas particuliers (p. 186), la fixation des colorations vitales présente des avantages immédiats sur l'examen direct des cellules colorées vitalement ⁽¹⁾. Il faut s'assurer, naturellement, que les images obtenues après fixation sont exactement superposables à celles qu'on observe sur le vivant. Aucun des procédés jusqu'ici préconisés (ni celui de TURCHINI, ni celui de GOLOVINE) ne nous ont donné de résultats satisfaisants. Le procédé de LEWIS à la vapeur d'Iode fournit une fixation suffisante du rouge neutre, mais les échecs ont lieu au cours du montage des préparations. Le rouge neutre, qui est le plus fidèle des colorants vitaux basiques, n'a jamais résisté entre nos mains à l'action dissolvante de l'alcool (que cet alcool soit picraté ou molybdaté) ; un montage à la gomme iodée ne donne pas de préparations suffisamment claires.

Nous résumerons ici un procédé particulier qui nous a donné des résultats satisfaisants, mais qui ne s'applique qu'à des cellules isolées ou à des lames unicellulaires.

⁽¹⁾ Nous ferons remarquer que la fixation iodiquée pourra sûrement donner des résultats intéressants en ce qui concerne la mise en évidence des leuco-dérivés de colorants vitaux, en raison de la forte action oxydante exercée par l'iode. Nous possédons un certain nombre d'observations favorables à cette idée.

Quelques cristaux d'Iode sont introduits dans une pipette. On bouche l'extrémité large avec le doigt et on chauffe la pipette sur une flamme. La vapeur d'Iode violette s'échappe par l'extrémité effilée. On dirige ce filet de vapeur sur les cellules à fixer étendues sur une lame (ou, mieux, sur une lamelle) et recouvertes d'un minimum d'eau ; il faut que l'endroit à fixer se recouvre d'une mince couche de cristaux d'Iode. On laisse ensuite évaporer à la fois l'eau et l'excès d'Iode et on achève la déshydratation et l'élimination du fixateur avec du terpinéol déshydraté. Le terpinéol est éliminé à son tour avec du toluène et la préparation est montée dans du *baume de Canada iodé*.

Le baume iodé se prépare de la façon suivante : du baume sec est fondu au bain-marie avec un peu de xylol ; on y ajoute ensuite (toujours à chaud) une solution concentrée d'Iode dans du xylol, goutte à goutte et en mélangeant ; on attend l'apparition d'une teinte brune persistante. Le baume iodé doit être légèrement plus coloré que le baume naturel.

On obtient ainsi des préparations durables où les résultats de la coloration vitale sont parfaitement conservés.

La technique peut être perfectionnée par l'introduction d'un fixateur et d'un colorant supplémentaires :

Une fois l'objet fixé à la vapeur d'Iode, on le plonge dans une solution qui a pour effet de dissoudre l'Iode et en même temps de compléter la coagulation du cytoplasme. Dans ce but on peut employer une solution aqueuse saturée de sublimé, additionnée d'une solution concentrée de KI jusqu'à redissolution du précipité de HgI_2 . Le fixateur de Zenker, additionné de KI suivant le même principe, donne de meilleurs résultats, mais doit être préparé au moment de l'emploi. Après élimination de l'Iode et lavage à l'eau courante, les préparations peuvent être colorées au vert de méthyle en solution aqueuse diluée ou (suivant l'effet qu'on se propose d'atteindre) au glychémalun-vert lumière (en solution aqueuse) ; le glychémalun est viré à l'eau de source. Il faut toujours éviter l'emploi des solutions fortement acides ou alcooliques.

Après coloration et lavage à l'eau distillée, les préparations sont amenées à demi-dessiccation, puis déshydratées au terpinéol et montées comme précédemment.

d) Anesthésie.

Il est souvent nécessaire de fixer les Infusoires contractiles en extension parfaite ; notamment pour le montage entre lame et lamelle de colonies entières de Vorticellidés : la rétraction des styles produit un tassement des individus qui est défavorable à l'examen microscopique.

Après une série de tâtonnements nous nous sommes arrêté à la formule suivante :

Chlorétone (chloroforme-acétone).	1 gr.
Somnifène (Roche) (1)	10 cm ³
Liquide isotonique au milieu de culture	1.500 cm ³

Ce mélange est ajouté au milieu contenant les Infusoires dans la proportion de 1 partie pour 10 de milieu. Après une dizaine de minutes d'action, l'anesthésie des myonèmes est complète, mais les cils continuent à battre, ce qui évite une asphyxie des individus. Cette anesthésie est réversible par simple transport des Infusoires dans l'eau. Comme le somnifène précipite sous l'action des métaux lourds, il est souvent bon de rincer rapidement les Infusoires avant la fixation. Au point de vue cytologique, nous avons obtenu par ce procédé une conservation parfaite des structures cytoplasmiques.

e) Fixation et coloration.

Nous nous bornerons à indiquer quelques détails relatifs aux techniques mitochondriales.

Fixateurs mitochondriaux. — Dans nos recherches sur les Protistes et les Invertébrés, c'est incontestablement le Bichromate-Osmium-Sublimé-Urane (*B. O. S. U.*) de BENOIT (25) qui nous a donné les résultats de beaucoup les meilleurs. Peu pénétrant, ce fixateur doit être appliqué autant que possible à des cellules isolées. Dans sa formule originale, le *B.-O. S. U.* est souvent trop concentré. Pour les Infusoires et les amibocytes, on a avantage à le diluer et à réduire son temps d'action.

Voici, à titre d'exemple, les temps et les dilutions dans deux cas différents :

a) Infusoires :

Fixation dans du B. O. S. U. dilué au quart dans l'eau de source.	1'
Chromisation dans du bichromate de K à 1 0/0	20'
Lavage à l'eau de source	1 heure

(1) 1 centimètre cube de somnifène Hoffmann-Roche contient 0,1 gr. d'acide diméthylebarbiturique et 0,1 gr. d'acide allyleisobutylebarbiturique.

Exprimé en termes chimiques, le mélange anesthésique devient donc :

(CH ₃) ₂ COHCCl ₃	1 gr.
Ac. diméthylebarbiturique	1 gr.
Ac. allyleisobutylebarbiturique	1 gr.
Solution isotonique	1 500 cm ³

Ces proportions ont été spécialement établies pour le cas des Vorticellides. L'optimum peut varier dans une certaine mesure pour d'autres organismes.

Coloration *in toto*, ou inclusion très rapide et coloration sur coupes.

Ce procédé nous a permis d'obtenir, par exemple, des colorations mitochondriales de colonies entières de *Carchesium* (colorées *in toto* et montées entre lame et lamelle) où toutes les mitochondries de tous les individus étaient parfaitement colorées et conservées. Ces fixations rapides permettent des colorations d'une pureté parfaite, mais les préparations ainsi obtenues pâlisent au bout d'un an environ.

Pour obtenir des préparations permanentes, il faut prolonger le temps de fixation à 30', la chromisation à 24 heures (dans du bichromate à 5 o/o et à 37°). Mais les colorations sont alors moins brillantes.

Pour les Protozoaires à enveloppe externe résistante (*Polytoma*), on peut employer le fixateur de Benoit non dilué, mais il est alors absolument nécessaire de faire la fixation à la glacière

b) *Amibocytes d'Invertébrés* (*Annélides*, *Sipunculien*s, *Priapulien*s).

Les lamelles chargées d'amibocytes sont plongées dans le B. O. S. U. dilué de moitié dans l'eau de mer et refroidi à + 3-+ 4°C. La fixation se poursuit à la même température et nécessite de 12 à 14 heures. La coloration est précédée d'un lavage de 45' à 1 heure dans l'eau courante.

Colorants mitochondriaux. — Nous nous servons soit de la rubine + vert lumière de Benoit, soit de notre modification de la coloration d'Altmann. HOLLANDE (30) signale des insuccès avec notre procédé. Ceci nous incite à donner ici quelques indications supplémentaires, omises dans notre première publication (VOLKONSKY 28).

Suivant la nature du fixateur et la durée de la fixation, la rubine S est plus ou moins fortement retenue par le protoplasme des cellules et le différenciateur (Aurantia) a le temps de colorer plus ou moins fortement protoplasme, noyau et enclaves au cours de son action différenciatrice. Il s'en suit de grandes variations dans l'action du colorant nucléaire (mélange de violet et d'azur II de méthylène).

Nous envisagerons donc trois cas :

a) Pendant la différenciation, l'aurantia a juste le temps de colorer fortement les inclusions aurantiophiles et de donner une légère teinte diffuse au cytoplasme. C'est le cas d'employer sans modifications la technique primitivement publiée.

b) La différenciation est très lente. Il en résulte une surcoloration du fond par l'aurantia, ce qui inhibe ou détourne la coloration nucléaire (taches, empatement). Dans ce cas, on enlève l'excès d'aurantia avec de l'alcool à 70° avant l'action du fixateur molybdique.

c) La différenciation de la rubine est instantanée. Dans ce cas on a avantage à ralentir la différenciation en réunissant le différenciateur et le fixateur de la rubine. Voici la formule du réactif en question :

Aurantia	0,25 gr.
Ac. phosphomolybdique.	1,0 gr.
Soude normale.	10 cm ³
Alcool à 90°	25 cm ³
Eau distillée	65 cm ³

Préparer cette solution de la façon suivante : dissoudre l'ac. phosphomolybdique dans 10 cm³ de soude + 30 cm³ d'eau ; dissoudre, en tiédissant, l'aurantia dans 35 cm³ d'eau + 25 cm³ d'alcool ; après dissolution complète, refroidir et mélanger les deux solutions.

En dehors de cette technique polychrome, dans les cas où la coloration du chondriome seule nous intéressait, nous avons largement utilisé la technique à la rubine S-vert lumière. Cette technique nous paraît de beaucoup la meilleure parmi les colorations mitochondriales dichromes.

f) Imprégnations métalliques.

Parmi une série de fixateurs utilisés, c'est celui de Cajal-Reiss (pour les imprégnations argentiques) et celui de Mann-Kopsch (pour les imprégnations osmiques) qui nous ont, en général, donné les résultats les meilleurs. Dans le cas de cellules isolées ou de cellules superficielles de tissus (choanocytes), on a avantage à interposer un écran colloïdal entre les cellules et la solution argentique. La gélose à 1,3 o/o, préconisée par E. CHATTON (29), convient parfaitement à cet usage. C'est pourquoi, et selon un procédé largement utilisé par l'école de Parat, toutes les fois que nous avons à imprégner des cellules superficielles, les pièces fixées et lavées étaient enrobées dans de la gélose avant d'être plongées dans la solution de nitrate.

Cette précaution est inutile dans le cas des imprégnations osmiques.

g) Techniques histochimiques.

Quelques détails particuliers dans les techniques de « démasquage » des histolipoides seront indiqués pp. 157 et suivantes.

h) Déshydratation et inclusion.

Pour l'inclusion des Protozoaires dans la paraffine, nous avons eu recours suivant les cas à l'un de ces trois procédés :

a) Enrobage préalable dans de la gélose, suivant la technique de CHATTON (*loc. cit.*), dans les cas où une orientation fixe était nécessaire.

b) Enrobage préalable en masse dans la gélose (VOLKONSKY, 31),

dans les cas où une orientation fixe des individus n'était pas indispensable.

c) Inclusion de gros Protozoaires isolés (*Stentor*, *Spirostomum*) ou de colonies entières de Protozoaires fixés (Vorticellidés).

Dans ce cas nous ne saurions trop insister sur l'avantage qu'il y a à multiplier le nombre des bains alcooliques de concentration croissante et à réduire au minimum le temps de séjour dans chaque bain. Ceci est particulièrement important dans le cas de fixations de courte durée.

Voici, à titre d'exemple, les temps que nous préconisons pour la déshydratation et l'inclusion d'une colonie de Vorticellidés :

Alcool à 15°	1'
— 30°	1'
— 50°	1'
— 70°	1'
— 85°	1'
— 95°	1'
— 100° (I)	2'
— 100° (II)	3'
100° (III)	5'
Alcool à 100°, 2 parties + toluène, 1 partie . . .	1'
— 1 — + toluène, 2 — . . .	1'
Toluène (I)	3'
— (II)	5'
Paraffine + toluène	5'
Paraffine (I).	5'
Paraffine (II)	15'

Toute la manipulation occupe ainsi moins d'une heure.

Des précautions sont également nécessaires pour la bonne conservation des choanocytes d'Éponges (VOSMAER et PEKELHARING, 98-99). Il est nécessaire ici aussi de multiplier les bains successifs dans les alcools et de passer graduellement de l'alcool absolu au toluène.

I. — LES ÉLÉMENTS FIGURÉS DU LIQUIDE CŒLOMIQUE DES SIPUNCULIDÉS

Description cytologique.

Le liquide cœlomique des Sipunculidés contient :

des hématies,

des leucocytes (amibocytes et cellules sphéruleuses),

des vésicules énigmatiques,
des urnes (chez *Sipunculus* et certains *Phascolosoma*),
des cellules chloragogènes, détachées des endothéliums,
des cellules sexuelles à tous les stades de développement.

La description cytologique des urnes a été donnée antérieurement (VOLKONSKY, 30_b). Seront étudiées ici les cellules sanguines proprement dites (hématies et leucocytes) de *Sipunculus nudus* L. et de *Phascolosoma vulgare* Bl. Nous parlerons aussi des vésicules énigmatiques.

Les hématies.

Ce sont des cellules discoïdales, aplaties, déformables (à la façon de petits sacs de caoutchouc remplis de liquide). Le noyau est petit (3 μ de diamètre) et fortement colorable, à texture chromatique grossière.

Le vacuome est représenté par une ou plusieurs vacuoles, assez grosses, bien visibles sur le vivant et à contenu fluide. Elles contiennent parfois de fins granules, déjà signalés par CUÉNOT (91) et CANTACUZÈNE (28). Les colorants vitaux basiques colorent d'abord les vacuoles préexistantes (visibles sans coloration), puis provoquent (pour peu qu'ils soient en excès) la formation de vacuoles nouvelles. Ces vacuoles néoformées se distinguent quelque peu des autres, en particulier par leurs contours moins brillants : on dirait des taches colorées au sein du cytoplasme, plutôt que des cavités remplies d'un liquide coloré. Au début de la coloration, le rouge neutre fait flocculer le contenu colloïdal des vacuoles ; les flocculats ainsi formés se dissolvent dans un excès de colorant. Des flocculats endovaculaires semblables apparaissent sous l'action des fixateurs et se colorent par les colorants basiques. Les méthodes d'imprégnations argentique (Cajal-Reiss, Cajal alcoolique, da Fano) ou osmique (Mann-Kopsch, ou imprégnation directe prolongée par l'acide osmique à 2 o/o à 37°) ont pour résultat le noircissement des éléments du vacuome : tantôt le contenu vaculaire apparaît sous forme de fins précipités noirs (Pl. VII, fig. 1, 2), tantôt les vacuoles sont imprégnées en totalité sous forme de globules homogènes (Pl. VII, fig. 3). Ce sont là les seuls résultats que les imprégnations métalliques nous aient donnés au niveau des hémathies.

KOLLMANN (08) suppose que les vacuoles des hématies sont des

corps de nature parasitaire ; HÉRUBEL (08) en fait des « corpuscules animés ». Aucune de ces hypothèses n'est à envisager.

En plus du vacuome, on aperçoit sur le vivant quelques fines gouttelettes lipidiques et, très difficilement, le chondriome. Le chondriome est représenté par un petit nombre d'éléments bacilliformes ou granulaires situés le plus souvent au voisinage du noyau. Le mélange rouge neutre + vert Janus donne facilement sur le vivant une double coloration du chondriome et du vacuome. Après un certain temps, le chondriome pâlit et le vert Janus vient colorer le noyau. On obtient ainsi, *post mortem*, une superbe double coloration : le vacuome reste coloré en rouge, le réseau chromatique du noyau en bleu-vert intense, sans que l'on aperçoive aucune altération de la cellule ou une trace de coloration cytoplasmique diffuse. Cette coloration se maintient pendant des heures.

Chondriome, vacuome et noyau sont noyés dans une masse de cytoplasme hyalin, réfringent et riche en lipoïdes « masqués », dont il sera question plus loin (p. 159).

La multiplication des hématies des Sipunculidés a donné lieu à des interprétations contradictoires : selon MÉTALNIKOFF (00), elle résulterait d'une fragmentation nucléaire dans les hématies très grosses, suivie d'une scission du cytoplasme (sorte de syntomie irrégulière). KOLLMANN (08) considère ces grosses hématies comme des formes dégénératives ; la multiplication (par voie de bipartitions amitotiques) se ferait aux dépens de cellules plus petites. Enfin, pour CANTACUZÈNE (28), deux divisions directes successives des hématies les plus grosses seraient suivies de la quadripartition du cytoplasme. Un corps jaune, fusiforme, qui prend naissance dans le cytoplasme au début du phénomène, disparaîtrait après la fin de la division cytoplasmique. Nos observations personnelles nous conduisent à l'interprétation suivante : deux divisions *amitotiques* successives du noyau conduisent à une cellule quadri-nucléée. Un peu avant la première amitose, il apparaît dans le cytoplasme un corps en fuseau, indépendant du chondriome et du vacuome, et de constitution protéique (réaction xantho-protéique) ; ce corps atteint sa taille maximum après la deuxième division nucléaire. Ensuite le cytoplasme se scinde en quatre. Celle des quatre cellules filles qui hérite du corps fusiforme dégénère progressivement en se chargeant d'enclaves graisseuses. Chez le Phascolosome la division semble avoir lieu par simple bipartition (amitotique) et sans apparition d'un corps fusiforme.

Les vésicules énigmatiques.

On désigne sous ce nom des sacs épithéliaux clos qui flottent librement dans la cavité coelomique des Sipunculidés.

Après DOGIEL (16), leur genèse et leurs fonctions furent étudiées d'une façon détaillée par CANTACUZÈNE (*loc. cit.*). Dernièrement A. THOMAS (31, 32) décrit la genèse d'urnes aux dépens de vésicules énigmatiques. Urnes et vésicules énigmatiques persistent en cultures *in vitro* dans du plasma de Sipuncle. Cette observation, intéressante en soi, n'a pourtant rien de surprenant, étant donné qu'elle démontre, en somme, la genèse des urnes, cellules épithéliales modifiées, aux dépens des vésicules, elles-mêmes dérivées épithéliales. L'origine épithéliale de ces deux sortes de formations avait été suffisamment démontrée par MÉTALNIKOFF, SELENSKY, DOGIEL. Avant d'en conclure à l'existence d'une alternance de générations (vésicules-urnes), il faudrait pouvoir constater en plus la transformation inverse (urnes-vésicules). A notre avis, l'observation de THOMAS ne saurait donc être interprétée comme un argument en faveur de la nature parasitaire ds ces éléments.

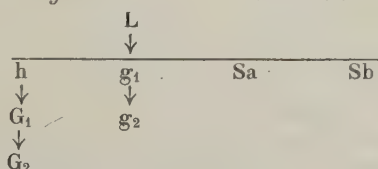
Les vésicules énigmatiques pluricellulaires dérivent d'éléments unicellulaires. Les cellules des vésicules mûres s'isolent et chacune donne naissance à une vésicule pluricellulaire nouvelle. Les cellules très aplaties des vésicules sont gaufrées et finement plissées, de telle sorte qu'en vue polaire l'épithélium paraît doublé, du côté de la cavité interne, par un réseau de fins trabécules, dont les principaux rayonnent à partir des noyaux. Les limites cellulaires, difficiles à voir sur le vivant ou après les colorations courantes, sont électivement imprégnées par l'argent (après montage en gélatine salée, suivant la méthode CHATTON et LWOFF). Un deuxième réseau apparaît alors, coupant le réseau de plis : la vésicule est divisée en une série de polygones dont les noyaux occupent les centres. Les cellules sont donc entièrement indépendantes les unes des autres, et les vésicules ne sont point des formations syncytiales ; ceci est vrai aussi bien pour des éléments bi-cellulaires que pour les éléments les plus gros. Le vacuome est représenté par quelques petits éléments situés au voisinage de chaque noyau. Le chondriome (petits chondriocontes et mitochondries) occupe les mêmes régions ; certains de ses éléments se dispersent en outre dans le reste du cytoplasme en suivant les plis principaux (Pl. IV, fig. 33 et Pl. V, fig. 19). Chondriome, vacuome et noyau rappellent beaucoup les éléments correspondants des autres cellules sanguines et plus spécialement ceux des amibocytes hyalins.

Les leucocytes.

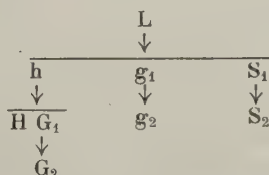
Nous avons consacré un article à l'étude des lignées leucocytaires des Sipunculidés (MARCOU et VOLKONSKY, 33). Rappelons brièvement nos conclusions antérieures :

L'arsenal leucocytaire des Sipunculidés comprend : des lymphocytes (L), des hyalins (h. et H.), de grands granulocytes (G_1 et G_2), de petits granulocytes (g.) et des cellules sphéruleuses, acidophiles (S. a.) et basophiles (S. b.) chez le Phascolosome et le Phascolion, uniquement basophiles (S_1 et S_2) chez le Siponcle. La filiation de ces différentes lignées leucocytaires se résume ainsi :

Pour *Phascolosoma vulgare* et *Phascolion strombi* :



Pour *Sipunculus* :



D'après leurs fonctions, les grands amibocytes (H., G_1 , G_2) méritent le nom générique de macrophages, les petits (h., g_1 , g_2) celui de microphages.

Nous entreprendrons dans ce chapitre la description cytologique de ces différentes espèces leucocytaires. A cet effet, les leucocytes ont été étudiés surtout à l'état actif, tels qu'on les obtient en laissant séjourner une goutte de liquide coelomique sur lamelle. Ce procédé permet d'obtenir des amibocytes à tous les stades d'étalement, ce qui est très favorable à l'étude de fins détails cytologiques. En veillant à ce que la lame soit, au cours des manipulations, constamment recouverte d'une couche suffisante de liquide, on obtient des préparations où les pétaloïdes de leucocytes isolés rayonnant dans l'espace ainsi que les fins prolongements des leucocytes associés sont conservés en place.

Sur le vivant et sans coloration, on peut distinguer le *vacuome* et le *chondriome des hyalins*, ce qui est très difficile (voir impossible) dans les autres leucocytes, à cause de la présence des grains. Le rouge neutre s'accumule dans les vacuoles en leur donnant un ton rouge brique, en général homogène ; le bleu de crésyle brillant

— un ton violet homogène. Le bleu de toluyène a tendance à y précipiter sous forme de fins granules violets sur fond incolore. Les imprégnations métalliques (Cajal-Reiss, Mann-Kopsch) donnent, dans la grande majorité des cas, un noircissement des éléments du vacuome; les images sont alors superposables à celles obtenues sur le vivant avec le rouge neutre. En coloration supravitale, le vert Janus colore vivement le chondriome mais en y occasionnant assez rapidement des altérations. C'est pour cela que nous avons préféré représenter sur nos figures le chondriome coloré après fixation.

Lymphocytes (L) et hyalins (h et H). — Le vacuome des lymphocytes est constitué d'un petit nombre (1 à 5) de très petites vacuoles, le plus souvent appliquées contre le noyau (Pl. V, fig. 1). Ces vacuoles occupent une région définie du cytoplasme qui coïncide avec une zone de tassement du chondriome. Il y a une dizaine de vacuoles dans les petits hyalins (Pl. V, fig. 2 et 21). Au cours de la transformation de h en H, la croissance cellulaire est accompagnée d'un développement considérable du vacuome. L'ensemble des vacuoles forme une calotte appliquée au noyau (Pl. V, fig. 10) ou un amas en regard de sa partie concave (Pl. V, fig. 3); dans les grands hyalins très étalés, il arrive, enfin, que le vacuome se trouve dispersé dans l'ensemble du granuloplasme (Pl. V, fig. 11); les vacuoles ont alors tendance à se ranger suivant des lignes rayonnant à partir du centre cellulaire. À côté des petites vacuoles, il en existe de plus grosses (Pl. V, fig. 13) qui présentent une affinité moindre pour les colorants vitaux. À la suite d'imprégnations métalliques, ces vacuoles plus grosses prennent une teinte grise, tandis que les autres vacuoles se colorent en noir (Pl. VIII, fig. 3). Dans les hyalins jeunes (h), les vacuoles se tassent dans la région centrosomienne. Dans les grands hyalins (H) du Siponcle, cette région est occupée par un amas serré de chondriome (dont il sera question plus bas); alors le vacuome ménage un espace libre dans la partie concave du noyau et ses éléments ont tendance à se disperser en files, rayonnant à partir de cet espace libre (fig. 13).

Au cours de l'exposition sur lamelles du liquide cœlomique extravasé, le vacuome des amibocytes (surtout, celui des grands hyalins) subit une évolution caractéristique; le nombre des vacuoles augmente et certaines d'entre elles s'accroissent; à la fin du processus, on peut trouver des éléments vacuolaires de taille considé-

nable, ou le rouge neutre précipité sous forme de fines aiguilles (Pl. VII, fig. 12). Cette évolution semble liée au changement d'état allotropique (passage de l'état E_1 à l'état E_2) que subissent les amibocytes extravasés. Le phénomène serait alors comparable à l'évolution que subit le vacuome des cellules en culture à la suite de leur transformation de fibrocytes en macrophages (CARREL et EBE-LING, 26, 26_a).

Le chondriome est constitué, dans le cas du Siponcle, par de longs chondriocontes flexueux. Dans les lymphocytes ces chondriocontes, très peu nombreux, forment un petit peloton dans la région centrosomienne, d'où ils rayonnent en contournant le noyau (Pl. IV, fig. 4). Au pôle opposé ils sont dépourvus d'orientation fixe (Pl. IV, fig. 2). Les petits hyalins se distinguent des lymphocytes par le développement considérable du peloton chondriosomique, qui dans les cellules non étalées se présente souvent comme une masse compacte, inanalysable (Pl. IV, fig. 9). Les chondriosomes sont très longs, ramifiés, souvent réticulés. Dans les leucocytes fortement étalés, le paquet chondriosomique s'écrase contre le verre, ce qui permet d'analyser sa constitution en détail. On constate alors que la transformation des petits hyalins en grands est accompagnée d'une évolution particulière de leur chondriome central : dans les cellules les plus jeunes, l'amas chondriosomique est constitué en sa partie centrale par un grand nombre de petits chondriocontes courts et droits simulant un petit aster (Pl. IV, fig. 12) ; il y a donc ici un début de différenciation du chondriome en deux catégories. Cette différenciation s'accroît dans les stades ultérieurs : nous y trouvons, au niveau du paquet chondriosomique central, tous les intermédiaires entre des chondriocontes courts et épais et des corps en écailles, véritables « lépidosomes » à substance chromophile et chromophobe (Pl. IV, fig. 15).

Chez le Phascolosome et le Phascolion, le chondriome est représenté par des éléments moins longs et plus nombreux. Les lymphocytes et les hyalins les plus jeunes sont caractérisés par des chondriosomes extrêmement grêles (Pl. IV, fig. 26). Ces éléments sont répartis dans la cellule d'une façon beaucoup plus homogène que chez le Siponcle. Dans les hyalins les plus gros ainsi que dans les jeunes granulocytes, le chondriome central prend une disposition rayonnée ; ce caractère est particulièrement accentué dans le cas d'amibocytes binucléés (Pl. IV, fig. 31). Cependant, on n'observe

pas ici une différenciation du chondriome en deux catégories morphologiquement distinctes comme dans les hyalins du Siponcle.

Grands granulocytes (G_1 et G_2).

Le vacuome des grands granulocytes (Pl. V, fig. 20 et 22 ; Pl. VII, fig. 8-9) est moins développé que celui des hyalins dont ils dérivent. Cette régression est surtout marquée dans les grands amibocytes à gros grains, à tel point que dans certains on ne trouve plus aucun élément décelable par les colorants vitaux. Les grains spécifiques sont incolores sur le vivant. Les grains les plus fins (dans les grands granulocytes à petits grains) apparaissent à même le cytoplasme sans présenter aucun rapport de filiation visible ni avec le chondriome ni avec le vacuome. Au moment de la métamorphose des grains (transformation de G_1 en G_2), chaque grain s'accroît, devient plus réfringent et change de réactions tinctoriales, le virage commençant au centre du grain et gagnant la périphérie.

Les petits granulocytes (g_1 et g_2).

Au début, le vacuome des petits granulocytes se distingue peu de celui des hyalins. Il subit ensuite une régression (Pl. V, fig. 6-8 ; Pl. VII, fig. 7) et peut manquer totalement dans les cellules mûres (Phascolosome). Chez le Siponcle, les vacuoles forment le plus souvent un amas serré appliqué contre la face concave du noyau (noyaux réniformes) (Pl. V, fig. 6) ou coincé dans son étranglement (noyaux en bissac) (Pl. V, fig. 4) ou enfin, situé non loin de celui-ci (Pl. V, fig. 7). Les grains spécifiques, fins et assez peu réfringents chez le Phascolosome et le Phascolion, ne se colorent pas par le rouge neutre. Au contraire, le bleu de crésyle brillant et le bleu de toluyène leur confèrent sur le vivant une teinte bleu ciel, pâle, nettement distincte de la coloration violette que prend le vacuome (Pl. V, fig. 14). Aucun de ces colorants ne colore vitalement les grains des petits granulocytes du Siponcle. Les imprégnations métalliques donnent des images superposables à celles du rouge neutre. Dans les petits granulocytes, comme dans les grands, les grains spécifiques ne présentent aucun rapport visible ni avec le chondriome, ni avec le vacuome. Le chondriome est semblable à celui des lymphocytes (Pl. IV, fig. 17-20).

Les cellules sphéruleuses.

Ici, les grains spécifiques sont manifestement d'origine endovuolaire.

Les sphéruleuses acidophiles (*S. a.*) (caractéristiques du Phascosome et du Phascolion) sautent aux yeux, déjà à un faible grossissement, grâce à la coloration intense et spécifique que prennent leurs sphérules sous l'action des colorants vitaux : le rouge neutre les colore en rose pourpre ; le bleu de crésyle brillant et le bleu de toluylène en bleu ciel (Pl. V, fig. 16). Le contenu vacuaire se condense de très bonne heure et acquiert sa colorabilité spécifique. La colorabilité sur le vivant diminue dans les cellules âgées, mais la teinte caractéristique persiste. Notons enfin, que la totalité du vacuome participe à l'élaboration des sphérules.

Dans les *sphéruleuses basophiles* (*S. b.*), on peut observer tous les stades de génèse des grains au sein des éléments du vacuome. Chez le Siponcle, les jeunes sphéruleuses conservent assez longtemps un caractère d'amibocytes. Le vacuome est amassé contre le noyau ; les vacuoles les plus petites, les plus fortement colorables, sont au centre (Pl. V, fig. 5) ; la colorabilité diminue au fur et à mesure de leur accroissement et de la condensation corrélative de leur contenu. Dans les cellules plus âgées (Pl. V, fig. 9), il ne persiste plus quelques rares vacuoles faiblement colorables et sans position fixe. Les cellules mûres sont le plus souvent totalement dépourvues d'éléments colorables sur le vivant. Chez le Phascosome, une évolution parallèle nous conduit à de petites cellules (Pl. V, fig. 17) chargées de grosses vacuoles à contenu dense, à des cellules plus grosses, chargées de grains incolores et ne contenant plus qu'un nombre très petit de vacuoles colorées. Les imprégnations métalliques donnent des images superposables à celles obtenues avec les colorants vitaux (Pl. VII, fig. 12). Le chondriome ne présente pas de rapports avec les sphérules. L'accroissement des cellules sphéruleuses, résultant de l'accumulation de grains, a pour conséquence la dispersion des éléments mitochondriaux (Pl. IV, fig. 25) ; ceux-ci sont représentés par de courts chondriocontes et quelques mitochondries, situés dans les travées cytoplasmiques intergranulaires et uniformément répartis dans la cellule.

Questions générales

Les lépidosomes des macrophages.

Nous avons utilisé deux méthodes d'imprégnation métallique : celle à l'argent de Cajal-Reiss et celle à l'osmium de Mann-Kopsch. Avec l'une, comme avec l'autre, on obtient d'une façon quasi-constante l'imprégnation du vacuome de tous les éléments sanguins. Le plus souvent cette imprégnation est élective ; l'osmium donne des images plus fines que l'argent (Pl. VII, fig. 1 à 2). Une imprégnation fragmentaire du chondriome se superpose parfois chez les amibocytes à celles du vacuome (Pl. VII, fig. 13). Enfin, quelques-uns montrent une imprégnation élective de la partie chromophile des « corps en écailles » par l'osmium (Pl. VII, fig. 14). Dans l'ensemble, nos figures rappellent celles de ZWEIFAUM et ELKNER (26, 30).

Nous avons signalé, plus haut, la différenciation du chondriome central des macrophages suivie d'une transformation progressive en « corps en écailles ». Une évolution analogue a été décrite dans une série de cas pour les cellules sexuelles (PARAT, 28, PARAT et WOUTSENG-CHENG, 32) et somatiques (RADU, 30, HOSSELET, 31).

PARAT désigne les « corps en écailles » d'origine chondriosomique sous le nom de « lépidosomes ».

On peut comparer la transformation de chondriosomes en lépidosomes à la vésiculisation que les éléments du chondriome subissent sous l'action de certains agents chimiques et physiques et qui paraît correspondre à la rupture d'un équilibre instable. Le chondriome répond d'une façon semblable à des influences diverses (MILOVIDOV, 29).

Ce caractère n'est pas un apanage exclusif du chondriome. Ainsi le corps parabasal des Flagellés, qui possède toute une série de caractères communs avec le chondriome (voir GRASSÉ, 26), se vésiculise lui aussi sous l'action de l'acide acétique. D'autre part, la différenciation spontanée du parabasal en une partie chromophile et une partie chromophobe est un phénomène très général. On ne peut, cependant, pas faire rentrer le corps parabasal dans le chondriome comme le fit ALEXEIEFF (17). CHATTON et GRASSÉ (29) montrent que le corps parabasal peut coexister avec des corps en

écailles. M. et A. LWOFF (29) et nous-même (30_{a, b}) considérons le corps parabasal comme un dérivé centrosomien (voir A. et M. LWOFF, 31, *bibliogr.*). La même opinion est adoptée par CHATTON (30) et KIRBY (30, 30_a).

Dans la cellule animale, il existe donc des corps non colorables vitalement par le rouge neutre, colorables (ou non) par le vert Janus, détruits par l'acide acétique et constitués par deux substances, l'une chromophile, l'autre chromophobe ; la substance chromophile peut toujours être imprégnée par l'argent et par l'osmium, fixer les colorants mitochondriaux ; elle donne en outre les réactions des lipoides. Ces corps peuvent être d'au moins deux origines différentes : chondriosomique et centrosomienne (¹). Il est naturel que des constituants cellulaires différents (parabasaux, chondriome), possédant des caractères cytologiques communs (donc, probablement, une constitution semblable), subissent sous l'action des mêmes agents (acide acétique, chaleur), ou dans leur évolution naturelle, des modifications structurales semblables. La similitude de forme ne serait donc que le résultat d'une constitution analogue. L'analogie structurale et constitutionnelle n'implique pas une homologie (²).

On sait que les dictyosomes des gonades peuvent se multiplier par bipartition. Il en est de même dans le cas des parabasaux d'Eponges (VOLKONSKY, 30_a ; TUZET, 32). Peut-être dans certaines espèces les lépidosomes jouissent-ils d'une autonomie complète (par ex. dans les Euglènes, SIGOT, 31), à la façon des plastes végétaux

(¹) E. CHATTON, M. et A. LWOFF (31_a) montrent que les trichocystes des Ciliés Apostomes sont des dérivés cinétidiens. D'après une communication inédite de ces auteurs, ces trichocystes se vésiculisent sous l'action d'une fixation défectueuse ou au cours de leur dégénérescence naturelle, pour se transformer en des masses sphériques argyrophobes, surmontées de calottes argyrophiles.

(²) DUBOSCQ et GRASSÉ (32) attirent l'attention sur les cas de plastes végétaux en forme de dictyosomes à substances chromophile et chromophobe (Mlle G. PR, 32). Cet argument se retourne contre eux. En effet, de trois choses, l'une :

a) ou bien tous les plastes des végétaux sont homologues à l'appareil de Golgi. Mais que devient alors la théorie de Bowen ?

b) ou bien « l'appareil de Golgi » est représenté par « certains plastes » seulement et ne constitue donc pas une entité autonome ;

c) ou bien, enfin, la forme « dictyosome » peut être assumée par des organites d'origines très différentes (donc non homologues) et c'est là, précisément, notre opinion.

qui, s'ils se forment aux dépens d'éléments mitochondriiformes à chaque génération chez les plantes supérieures, sont doués, en revanche, de continuité génétique chez les plantes inférieures. Toutefois, en ce qui concerne les lépidosomes, la possibilité d'une autonomie semblable reste entièrement à démontrer ⁽¹⁾.

En se basant sur des caractères tinctoriaux cytochimiques et morphologiques (forme « dictyosome »), DUBOSCQ et GRASSÉ concluent à l'homologie entre les lépidosomes et le corps parabasal des Flagellés.

Or, lépidosomes et parabasaux, nous l'avons dit, se distinguent par leur origine ⁽²⁾.

Dans le cas particulier des cellules sanguines des Sipunculidés, on ne peut réunir en un seul groupe les parabasaux des urnes (d'origine cinétidienne) et les lépidosomes des grands amibocytes (d'origine chondriosomique), organites qui ne possèdent d'ailleurs, ni les uns, ni les autres, d'homologues ni dans les autres leucocytes, ni dans les hématies, ni dans les vésicules énigmatiques.

I. — *Distribution des histolipoïdes.*

a) *Histolipoïdes des choanoleucocytes.*

FAURÉ-FRÉMIET, MAYER et SCHAEFFER (10) créent le terme d'histolipoïdes pour désigner les lipoides entrant dans la constitution intime de l'édifice cellulaire. NOLL (13), puis BIEDERMANN (24), trouvent que les lipoides sont étroitement liés aux protéines.

CIACCIO (26) montre que leur mise en évidence nécessite un « démasquage » préalable (« lipophanérose »).

Dans le cas des amibocytes des Sipunculidés, les techniques

(1) Nous considérons donc comme prématurée l'adoption d'une notion de « lépidome », entité autonome et de valeur égale à celle de chondriome (CHATTON, 30).

(2) La thèse « parabasal = appareil de Golgi » évolue ces temps derniers vers des formes curieuses. Dans un travail récent d'HIRSCHLER (32), on apprend avec émerveillement que les corps parabasaux de *Trypanoplasma*, de *Proteromonas* et de *Devescovina* sont des organites entièrement différents, étant donné que l'un est un appareil de Golgi, l'autre un corps chondrio-fusomal, le troisième un corps chondrio-afusomal ; le parabasal d'un choanocyte d'Eponge (« prologgiome ») serait l'homologue d'un centrosome annulaire de *Proteromonas*.

lipoïdiques directes mettent en évidence uniquement de fines gouttelettes graisseuses lécithinifères, déjà visibles sur le vivant (Pl. V, fig. 11). Ces gouttelettes, plus abondantes dans les grands hyalins, sont disposées entre les vacuoles et au pourtour du noyau.

L'application de différentes méthodes de démasquage conduit à une lipophanérose à trois niveaux différents :

1) *Les histolipoïdes périvacuolaires*. — Les grands hyalins fortement étalés sur verre commencent à subir, à la longue, une légère altération (surtout dans le cas du *Siponcle*), qui se manifeste sur



Fig. 1. — Différentes figures de lipophanérose dans les amibocytes : *a*, démasquage autolytique des histolipoïdes périvacuolaires dans un grand hyalin de *Sipunculus* ; *b*, démasquage global et concrétion des histolipoïdes sous l'action du phénol, dans un grand granulocyte (G_1) binucléé de *Phascolosoma* ; *c*, démasquage *in situ* des histolipoïdes au niveau des grains spécifiques et des lames hyaloplasmiques d'un grand granulocyte (G_2) de *Phascolosoma* (chromisation de 7 jours à 37°).

le vivant par un gonflement du vacuome et une augmentation de la visibilité du noyau. Après une fixation au formol à 10 0/0 dans l'eau de mer, suivie d'une postchromisation de 48 heures à 37° dans du bichromate à saturation, l'hématoxyline de Kultschitzky donne une coloration violet pâle diffuse à un espace situé en regard de la face concave du noyau et dans laquelle les vacuoles sont visibles en négatif (fig. 1 *a*). Le noyau apparaît en jaune pâle. Le Soudan III ne donne pas de coloration visible. Il s'agit apparemment d'un démasquage par voie autolytique d'histolipoïdes de la zone vacuolaire (*zone de Golgi* de PARAT).

2) *Les lames hyaloplasmiques*. — FAURÉ-FREMIET (29) admet que les lames hyaloplasmiques sont riches en phosphatides, étant donné qu'elles se colorent en noir par l'hématoxyline après fixation

cuprique. Ce résultat peut être corroboré par l'application des méthodes chromiques (pour la question de la valeur des techniques chromiques, nous renvoyons au mémoire de PARAT et PARAT, 30).

Nous avons utilisé comme fixateur soit le mélange de Helly, soit le formol à 10 o/o, soit le sublimé à saturation dans l'eau de mer. PARAT et PARAT (30) montrent que l'action prolongée du bichromate à saturation à 37° peut à elle seule produire une lipophanérose. Nous avons donc étudié l'action de chromisations prolongées (jusqu'à 7 jours). Parallèlement nous avons pratiqué des postcuprifications dans de l'acétate de Cu à saturation à 37° sur des frottis fixés au cupro-formol de Fauré-Frémiet. Enfin nous avons employé, comme agent de lipophanérose, le phénol à 1 o/o ; comme précipitant des phosphatides — le chlorure de Cd à 2 o/o.

Après fixation au liquide de Helly, suivie d'une chromisation de 60 heures dans du bichromate à saturation à 37°, les lames hyaloplasmiques se trouvent parsemées de fines gouttelettes colorables en bleu noir par l'hématoxyline de Kultschitzky, en orangé par le Soudan III. Ce résultat est manifestement un artéfact, ces gouttelettes n'existant pas sur le vivant. Le même phénomène se manifeste d'une façon beaucoup plus marquée après un démasquage de 48 heures dans du phénol à 1 o/o (fig. 1 b). L'addition de chlorure de Cd au phénol n'empêche pas le rassemblement des lipoides en gouttelettes. Seule une chromisation de 7 jours à 37° nous a permis d'obtenir un démasquage et une stabilisation des histolipoides hyaloplasmiques *in situ* (fig. 1 c). Après une coloration à l'hématoxyline de Kultschitzky, suivie d'une différenciation au borax-ferricyanure de Weigert, le cytoplasme est jaune pâle, la chromatine brunâtre ; les lames hyaloplasmiques les plus minces apparaissent, elles, colorées en bleu grisâtre, ce qui, étant donné leur extrême minceur, indique une réaction lipoidique très intense. Les pétaloïdes sont trop minces pour que le Soudan III puisse donner une coloration visible.

3) *Les grains spécifiques des leucocytes.* — Traités par les techniques lipoidiques directes, les grains spécifiques des leucocytes granuleux donnent des réactions négatives. Au contraire, après une surchromisation de 5 à 7 jours, ou après un démasquage au phénol de 7 à 11 heures suivi d'une chromisation de 48 heures, les grains des cellules sphéruleuses (*Sa* et *Sb*), ceux des g_2 mûrs et des G_2 se

colorent en noir par la technique de Dietrich, en orangé par le Soudan.

b) *Histolipoïdes des hématies.*

La substance fondamentale des hématies, homogène et réfringente, est très riche en lipoïdes masqués. Après fixation au formol, une chromisation de 5 jours à 37° permet d'obtenir des colorations diffuses de lipoïdes sur la totalité du cytoplasme. Une fixation au sublimé permet de réduire le temps de chromisation à 24 heures. Après démasquage au phénol, des gouttelettes lipoïdiques perlent à la surface externe des hématies et à l'intérieur des vacuoles (c'est là encore un type d'artéfacts de lipophanérose : transsudation des lipoïdes cytoplasmiques diffus à l'intérieur des éléments du vacuome).

De ce résumé nous voudrions tirer cette conclusion que l'état de masquage des lipoïdes diffus peut différer d'un cas à l'autre non seulement *quantitativement* (solidité du masquage), mais aussi, pour ainsi dire, qualitativement : ainsi à l'emploi d'agents de lipophanérose différents correspond une localisation différente des histolipoïdes démasqués (les histolipoïdes des hématies sont plus sensibles au sublimé, ceux de la zone de Golgi des amibocytes à l'autolyse, ceux des ptéropodes au bichromate, enfin, ceux des grains spécifiques au phénol). Il est probable que le *mode de masquage* diffère ici d'un cas à l'autre.

L'accumulation des histolipoïdes aux interfaces.

On admet généralement qu'il existe une accumulation d'histolipoïdes à la surface externe des cellules et à la surface des vacuoles intracellulaires. Si les différents arguments invoqués, pris isolément, ne sont pas suffisamment probants, leur ensemble crée, par contre, une forte présomption en faveur de cette idée (STEWART, 29, *bibliogr.*). Dans certains cas, cette accumulation peut être considérée comme une constatation d'ordre expérimental, et les amibocytes des Sipunculidés nous en fournissent un exemple de plus sous la forme de leur hyaloplasme lipoïdifère et des lipoïdes diffus de leur zone de Golgi. Quel est le déterminisme de cette accumulation ?

Le plus souvent on invoque la loi de GIBBS-THOMSON et les images de HARKINS pour rendre compte de ce phénomène. On assimile alors la cellule soit à une goutte de solution aqueuse (sérum) située dans le vide (limitée par une surface), soit — *inversement* — à une goutte de benzène plongée dans l'eau. Dans les deux cas, l'interface cytoplasme/eau est assimilée à une interface entre deux milieux à pouvoirs d'induction très différents, donc — à une interface à énergie interfaciale très élevée. Cette hypothèse est parfaitement gratuite. En adoptant la terminologie des modèles physiques, on pourrait tout au plus comparer l'interface cytoplasme/eau à une interface sérum/eau. On sait que l'adsorption des corps tensioactifs aux interfaces varie dans le même sens que l'énergie interfaciale, soit — *grosso modo* — comme la différence entre les constantes diélectriques des deux phases (HARKINS, 28, *bibliogr* ; REHBINDEB, 27). Pour que les lipoides se concentrent à l'interface cytoplasme-eau (suivant la loi de GIBBS), il faudrait que leur accumulation provoquât un abaissement de la tension à cette interface ; donc en l'absence de lipoides, cette tension serait réelle et supérieure à la tension interfaciale définitive. L'accumulation des lipoides aux interfaces cytoplasmiques nous apparaît au contraire comme l'un des facteurs contribuant à la réalisation même de ces interfaces et non point comme une conséquence « passive » de l'existence d'interfaces préformées. DEVAUX (104) observe qu'une goutte d'albumine au contact de l'eau se recouvre d'une véritable membrane physique ; mais l'interface ainsi constituée posséderait-elle dans le cas d'une cellule une énergie suffisante pour justifier une adsorption de lipoides ? STEWARD (*loc. cit.*) met en garde contre l'application de la loi de GIBBS à des systèmes hétérogènes de cet ordre. D'ailleurs, si nous admettons que les lipoides sont adsorbés (suivant la loi de GIBBS) au niveau d'une membrane préformée (hypothèse qui ne peut être rejetée *a priori*), nous nous trouverons en présence d'une adsorption à l'interface eau/membrane ou membrane/cytoplasme, et non point à l'interface eau/cytoplasme, ce qui n'est pas pareil du tout (1).

L'application du principe de GIBBS aux surfaces cellulaires est basée sur l'idée que les substances constitutives du cytoplasme peuvent se déplacer librement jusqu'à la réalisation d'un équilibre statique. Une image de ce que deviendrait un système hydro-lipo-protéique fixé dans un équilibre statique nous est fournie par l'exemple des globules de lait où les lipoides et les graisses occupent le centre et sont entourés d'une véritable pellicule pro-

(1) Pour expliquer la formation d'une membrane plasmatique externe, on peut faire appel à l'action des cations. L'importance des métaux divalents pour la formation de membranes de précipitation (ou de gélification) est bien connue (grâce, en particulier, aux travaux de CHAMBERS et REZNIKOFF, 26, et de CHAMBERS, 26). On pourrait même expliquer directement la formation de membranes péricellulaires lipoidifères de cette façon : il suffirait d'admettre que les lipoides sont sensibles à l'action coagulante des métaux à un degré plus élevé que les protéines. Ceci pourrait expliquer la formation de membranes riches en lipoides à la surface externe des cellules et, à la rigueur, à la surface des vacuoles digestives (exogènes) ; mais nous ne voyons vraiment pas comment on pourrait, sans introduire d'hypothèses supplémentaires, expliquer de cette façon la formation de pellicules lipoidifères, à la fois à la surface externe des cellules et à la surface des vacuoles endogènes : l'un, semble-t-il, exclut l'autre.

téique. L'équilibre statique est donc réalisé quand le système prend l'aspect : eau/(protéines + eau)/lipoides, et non point : eau/lipoides/(protéines + eau); ce qui est en accord avec ce principe de Langmuir-Harkins, que l'adsorption tend à rendre le passage d'une phase à l'autre le moins brusque possible (1). Pour montrer que les substances constitutives de la cellule se trouvent dans des rapports différents de l'équilibre statique, il suffit de noter que la mort de la cellule (qui conduit à cet équilibre) provoque un déplacement de substances; ce qui se traduit, en particulier, par une altération profonde de la perméabilité cellulaire. DEVAUX (30-32) concrétise l'idée de cet équilibre particulier dans sa conception (quelque peu philosophique) des « affinités cellulaires mutuellement saturées ». Selon cette idée, les interfaces plasmiques (externes et internes) seraient le siège de toutes les réactions du métabolisme cellulaire. Cela revient à dire que ces interfaces sont dans un état de déséquilibre thermodynamique constamment renouvelé, différant donc de l'état d'équilibre statique.

D'ailleurs, dans les cas où les lipoides de la région plasmatique externe ou les lipoides périvacuolaires peuvent être mis en évidence par voie histochimique, il ne s'agit sûrement pas de couches *molaires* (selon la terminologie de LECOMTE DU NOUY) mais bien de *zones de concentration* d'histolipoides.

Nous terminerons en citant une phrase de CHAMBERS (26) qui exprime une idée, implicitement contenue dans ce paragraphe : ... « Protoplasm is not a mere substance. It is a mechanism. The cell is the unit of structure of living matter, and protoplasm is protoplasm only insofar as it exists within the confines of a microscopic cell with its nucleus and its surrounding membranes ».

Dans le cas de la zone de Golgi, PARAT (28) a bien démontré que la concentration des histolipoides diffus dans une région limitée était intimement liée au tassement du vacuome dans cette même région. Pour lui (*ibid.*, p. 331), « c'est ... uniquement la présence de ces vacuoles et leur groupement en un amas dense qui impose au cytoplasme cette condensation de lipoides diffus ». ... Un accroissement de l'amas vacuolaire provoque une extension corrélative de la tache de lipoides (CHLOPIN, 27, PARAT). Bref, il faut admettre que l'accumulation des lipoides diffus est intimement liée au phénomène de séparation de phases qui préside à la formation des vacuoles, mais il faut admettre aussi que nous ne savons rien quant au mécanisme immédiat de cette accumulation.

Nous possédons, dans le règne des Protistes, un autre exemple d'une séparation de phases (*Entmischung*) liée à une condensation

(1) Les valeurs des constantes diélectriques des corps peuvent donner une idée grossière de leurs degrés de parenté (au point de vue des moments électromagnétiques des molécules) (HARKINS, 25). Voici les valeurs de quelques constantes diélectriques (d'après R. FÜRTH, 29a) : lécitine, 13,0; ovalbumine, 68; albumines du sérum humain, 82,5; eau, 81.

d'histolipoïdes : c'est le système des vésicules contractiles. Ici, nous passons par une série d'intermédiaires qui nous conduisent d'une simple tache vacuoligène (DE SAEDELEER et WOLFF, 31, 31_a, DE SAEDELEER, 31) à un système complexe, hautement différencié et à structure permanente (nous renvoyons, à ce sujet, au travail d'ensemble de ANS HAYE, 30). Mais aucun rapport n'existe (sauf le mode de formation, par séparation de phases) entre les éléments du vacuome, d'une part, éléments à caractères bien définis (voir plus loin, p. 235) et, d'autre part, le système des vésicules contractiles et de leurs primordia, système essentiellement hydrostatique (DOFLEIN et REICHENOW, 28, *bibliogr.*; DAY, 30) ou excréteur de cristalloïdes (SCHEWIAKOFF, HOWLAND, 24; ADOLPH, 26; WETHERBY, 27). Nous assistons donc ici à l'utilisation par la cellule d'un même mécanisme (séparation de phases) pour l'accomplissement de deux fonctions cellulaires différentes. Dans les deux cas la séparation de phases est liée à une modification locale du cytoplasme (enrichissement en lipoides). Dans l'un de ces cas (zone de Golgi), cette modification porte sur la constitution du cytoplasme et du chondriome environnant (PARAT et PARAT, 30); dans l'autre, elle peut aboutir à la constitution d'un organite lipo-protéique (FAURÉ-FREMIET, 25_c) permanent.

NASSONOV (24, 25) et ses élèves (KRASCHENINNIKOW, 29) considèrent les vésicules contractiles des Protistes comme les homologues de l'appareil de Golgi des cellules animales. Cependant, l'osmophilie des vacuoles pulsatiles, nullement spécifique (HALL, 30a), n'est pas un caractère suffisant (ANS HAYE, *loc. cit.*). D'ailleurs, qu'entend NASSONOV par appareil de Golgi? Dans son mémoire, les vésicules contractiles des Infusoires sont comparées à un « appareil de Golgi » de choanocytes d'Eponges qui est un corps parabasal (VOLKONSKY, 29; TUZET, 31, 32) ⁽¹⁾ et des lépidosomes de cellules sexuelles (au

(¹) La thèse de NASSONOV (vésicule contractile = appareil de Golgi) devait fatalement se heurter à celle de DUBOSCQ et GRASSÉ (appareil parabasal = appareil de Golgi). DUBOSCQ et GRASSÉ (27) remarquent prudemment qu'ils se gardent... « de repousser l'interprétation de NASSONOV, étant donné le cas de *Chilomonas paramacium* où la vacuole pulsatile a la situation de l'appareil parabasal et ressemble à lui quand elle est en systole. Les Ciliés n'ayant plus de centrosome, il est probable que l'appareil de Golgi (appareil parabasal) n'a plus chez eux les mêmes rapports que chez les Flagellés. » Nous ajouterons, de notre côté, qu'un appareil parabasal vésiculisé par une fixation défectueuse ressemble à une vésicule contractile en diastole, sans en conclure, toutefois, à une homologie entre ces deux organites. Il existe d'ailleurs des organismes qui possèdent à la fois des corps parasasaux et des vésicules contractiles (*Polytoma uella*, VOLKONSKY, 30c). Les Infusoires eux-mêmes

sujet des lépidosomes, voir plus haut, p. 155). Les Infusoires possèdent, d'autre part, des éléments correspondants au vacuome (corps de Golgi) de la cellule animale (VOLKONSKY, 29; HALL, 31_a; HALL et DUNIHUE, 31; DUNIHUE, 31). Si dans le cas des vésicules contractiles, comme dans celui de la Zone de Golgi il existe une condensation périvacuolaire de lipoides, l'analogie entre les deux systèmes ne va pas plus loin.

Dans deux cas différents, un changement local de composition du cytoplasme peut s'accroître au point de donner naissance à des structures nettement différenciées : dans un cas, nous passons d'une simple « tache vacuoligène » à la paroi lipo-protéique permanente d'une vésicule contractile de *Campanella* ; dans l'autre, un hyaloplasme lipoidifère différencié prend la place d'une simple condensation d'histolipoides à la surface de la cellule. Ni dans un cas, ni dans l'autre, l'enrichissement local en histolipoides ne peut être envisagé *a priori* comme une conséquence directe de la loi de Gibbs. Prise isolément, cette loi n'est pas plus apte à faire prévoir une accumulation d'histolipoides aux surfaces plasmiques que d'expliquer la constitution d'organites cellulaires différenciés.

La constitution des lames hyaloplasmiques et leur maintien.

Leur présence caractérise, nous l'avons vu, l'état allotropique E₂. Entrevues par CATTANEO, ces formations sont décrites plus tard sous le nom de « pétaloïdes » (ROSA), de ptéropodes (DEKHUYZEN). C'est GOODRICH (20), DEHORNE (25), FAURÉ-FRÉMIET (25-26-27) qui démontrent leur présence générale chez les amibocytes des Invertébrés Cœlomates et des Spongiaires (FAURÉ-FRÉMIET, 30_a) ; les membranes ondulantes, que CARREL (30) décrit chez les monocytes des Vertébrés, leur seraient identiques (FAURÉ-FRÉMIET, 30).

Certains Protozoaires comme *Hyalodiscus* (PÉNARD, FAURÉ-FRÉMIET, 29) possèdent également des pseudopodes pétaloïdes.

DEHORNE (25_a) compare les lames hyaloplasmiques à des figures myéliniques. Une série de faits, indiqués par FAURÉ-FRÉMIET, ainsi que les données énoncées dans le paragraphe précédent, parlent en faveur de leur richesse en lécithines. Cependant l'auteur lui-même calcule que la totalité des lécithines présentées dans un leu-

posséderaient des organites homologues des parabasaux et indépendants des vésicules contractiles (CHATTON, M. et A. LWOFF, 31).

cocyte suffirait à peine à recouvrir d'une couche monomoléculaire l'ensemble de ces pétaloïdes. Le substratum des lames hyaloplasmiques est certainement de nature protéique.

La formation des lames hyaloplasmiques et leur maintien seraient assurés, d'après FAURÉ-FRÉMIET (26), par une tension interfaciale *négative* entre l'hyaloplasme et le milieu liquide environnant.

C'est là un mécanisme différent de celui proposé par RHUMBLER pour expliquer la formation des lobopodes d'Amibes : chute locale de la tension interfaciale qui, cependant, reste positive (modèle physique : goutte d'huile dans une solution de potasse) (voir : FAURÉ-FRÉMIET, 30a). La critique que LISON (29) fait à l'hypothèse de FAURÉ-FRÉMIET s'adresse en réalité à celle de RHUMBLER.

En effet, quel est le comportement de deux phases liquides donnant lieu à leur interface à une tension interfaciale *négative* (autrement dit : à une poussée interfaciale) ?

Si le résultat final est toujours une interpénétration moléculaire des deux phases, il y a par contre deux façons différentes d'atteindre ce même résultat (MAXWELL) :

- 1° la diffusion (c'est-à-dire la disparition de l'interface) ;
- 2° l'interpénétration pseudopodiale (c'est-à-dire l'allongement indéfini de l'interface).

SCHÖNEBOOM (22) indique une série de cas où ce dernier processus (que l'auteur nomme « intertraction ») se trouve effectivement réalisé.

Une substance comme la lécithine, insoluble dans l'eau, mais possédant des groupements fortement hydrophiles, présentera au contact de l'eau une tension interfaciale négative (LEATHES, 25, p. 33).

Mais l'accroissement de l'interface sera ici limité et à l'étalement maximum correspondra une poussée interfaciale nulle, à l'instant où l'attraction des groupements hydrophiles par l'eau sera équilibrée par les forces de cohésion des molécules de lécithines (LEATHES, *loc. cit.* ; voir aussi : FRIEDEL, 27, 27a ; NAGEOTTE, 27-28a) (1). Une tension interfaciale négative peut donc déterminer la formation de films minces ; mais quelque attrayante que soit cette comparaison, il faut se garder d'en abuser dans l'application au cas des lames hyaloplasmiques.

(1) Si on envisage le gonflement des gels (tels que ceux des globulines) au contact de l'eau comme une diffusion limitée, on peut envisager, de même, la formation de figures myéliniques stables (NAGEOTTE) comme une intertraction limitée.

La poussée interfaciale semble être un facteur d'une importance capitale dans le mécanisme de la formation des pétaloïdes. Cependant, si leur constitution déterminait à elle seule l'étalement, celui-ci serait une propriété inhérente à l'hyaloplasme. Or les lames pétaloïdes ne sont stables qu'en tant que reliées au corps leucocytaire (FAURÉ-FRÉMIET, 29 ; LISON, *loc. cit.*) : aussitôt séparées de celui-ci, elles se résolvent en gouttelettes (à ce moment la tension interfaciale devient donc positive); d'autre part, une piqure suffit pour provoquer leur diffluece (FAURÉ-FRÉMIET). Les pétaloïdes sont en somme des structures en équilibre instable, dont le maintien est assuré par l'exercice continu de forces « biologiques » (pour faire plaisir à LISON) — autrement dit, encore inconnues — émanant du corps amibocytaire.

Si nous admettons que la poussée interfaciale est immédiatement responsable de la genèse des lames hyaloplasmiques, le maintien de ces lames une fois formées correspondra à une poussée interfaciale voisine de 0 : l'apparition d'une poussée positive, suffisante pour vaincre les forces de cohésion, provoquerait un étalement plus grand, l'apparition d'une poussée interfaciale négative (tension interfaciale positive) provoquerait une rétraction des lames hyaloplasmiques. Si la poussée interfaciale à tout moment donné possède une valeur voisine de 0, *les seules forces qui assureront la non-diffluece des lames hyaloplasmiques seront les forces de cohésion intermoléculaire*; les lames hyaloplasmiques sont, en effet, des formations rigides (FAURÉ-FRÉMIET, 1929 ; LISON, *loc. cit.*).

Il est d'autant plus nécessaire d'attribuer la stabilité des lames hyaloplasmiques à une déformabilité limitée du cytoplasme, que l'épaisseur de ces lames est nettement supérieure à celle des couches minces de LANGMUIR (POLICARD, 26 ; FAURÉ-FRÉMIET, 29). De plus, les agents, capables de modifier l'état de cohésion du cytoplasme (cations), modifient du même coup la forme des lames hyaloplasmiques (LEO LÖB, 20, 21 ; FAURÉ-FRÉMIET, 25_b, 29).

Sur le facteur capillaire de l'étalement et de la phagocytose.

Envisageons un système constitué par un amibocyte, un milieu liquide et une surface solide (ou une particule). Pour que l'amibocyte puisse s'étaler sur la surface (ou englober la particule), il faut :

1° que l'amibocyte entre en contact avec la surface (ou la particule); 2° une fois l'interface leucocyte/corps solide réalisée, il faut que cette interface se maintienne et ait tendance à s'accroître; 3° que l'accroissement de cette interface puisse être effectivement réalisé. L'ensemble de ces facteurs sera envisagé plus loin (p. 227). Nous nous occuperons ici du deuxième temps, celui où on peut faire intervenir le facteur capillaire.

PONDER (26) établit une formule permettant de prévoir tous les cas d'équilibre capillaire possibles entre un phagocyte et un corps étranger :

Si θ est l'angle dièdre formé entre la surface du corps étranger et la cellule; S_1 , la tension interfaciale entre la particule et le liquide; S_2 , la tension interfaciale entre la cellule et le liquide; S_{1-2} , la tension interfaciale entre la particule et la cellule; la formule de MAXWELL donnera à l'équilibre capillaire la formule suivante : $\text{Cos } \theta = \left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right)$.

En faisant varier $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right)$, on peut alors prévoir les cas suivants :

a, $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right) < -1$; pas d'ingestion; une particule *liquide* diffuserait sur la cellule (ce dernier cas peut être effectivement réalisé dans les expériences de DAWSON et BELKIN, 29, avec les Amibes et les gouttes d'huile); pas d'étalement.

b, $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right) = -1$; ni ingestion, ni étalement; la cellule est en équilibre au contact du corps étranger;

c, $-1 < \left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right) < +1$; conditions d'un étalement partiel et d'une ingestion partielle;

d, $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right) = +1$; cas limite de c;

e, $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right) > +1$; conditions d'une ingestion complète et d'un étalement illimité.

Que nous donne cette formule, si nous admettons que S_2 tend vers 0?

Le rapport $\left(\frac{S_1 - S_{1-2}}{S_2} \right)$ (pour une valeur finie de $S_1 - S_{1-2}$) tendra vers $+\infty$. Le premier effet de cette substitution sera donc d'éliminer ce « cas mathématique » (PONDER) d'une ingestion incomplète, si gênant pour les biologistes.

Ceci est une réponse partielle aux critiques faites à la théorie capillaire de TRAIT (FENN, MUDD et MUDD, LISON) : que la valeur de S_2 soit positive ou négative, si cette valeur est très petite (ce qui semble être une condition nécessaire à la formation de pseudopodes), les possibilités seront très restreintes d'un équilibre capillaire correspondant aux conditions d'une ingestion partielle. Cela rendrait compte de la différence essentielle qui existe entre les amibocytes vivants (à tension interfaciale basse) où l'ingestion est soit nulle — soit totale, et les modèles physiques (à tension interfaciale élevée)

de MUDD et de ses collaborateurs, où une « ingestion partielle » (par la phase organique) est un cas extrêmement fréquent.

Si S_2 est positif, les conditions d'étalement et de phagocytose seront données par l'expression $S_1 - S_{1.2} \geq S_2$; soit, par $S_1 - S_2 \geq S_{1.2}$.

Il en résulte que les corps les plus favorables à l'étalement et à la phagocytose sont ceux qui répondent à l'expression $S_1 \geq S_2$; tous les autres corps ne pourront servir de surfaces d'étalement (ou être englobés) que si $S_{1.2}$ est négatif. MUDD et MUDD (27) montrent que la surface des leucocytes est constituée par des corps ayant des propriétés intermédiaires (au point de vue capillaire) entre les corps gras et l'eau. Les corps gras réaliseraient alors au plus haut degré les conditions nécessaires à l'étalement et à la phagocytose.

Or, l'expérience conduit à des résultats exactement opposés : les corps gras ne sont pas englobés et les surfaces grasses ne peuvent servir à l'étalement.

Nous avons dit précédemment que l'hypothèse d'une tension interfaciale négative pouvait rendre compte du mécanisme immédiat de la formation et du maintien des lames hyaloplasmiques. Dans ces conditions, l'expression de TAIT-PONDER conduit à des conclusions très différentes.

Si S_2 est assimilé à une valeur très petite et négative, le rapport $\frac{S_1 - S_{1.2}}{S_2}$ changera de signe. Pour plus d'analogie avec le cas de PONDER, nous étudierons les variations de l'expression $-(S_1 - S_{1.2})$, soit de $:(S_{1.2} - S_1)$. Il faut envisager trois cas :

a, $(S_{1.2} - S_1) < 0$; ni étalement, ni phagocytose.

b, $(S_{1.2} - S_1) \rightarrow 0$; $\cos \theta$ tend alors vers $\frac{0}{0}$; il en résulte que dans ce cas une particule étrangère est en équilibre capillaire en n'importe quelle position à l'extérieur ou à l'intérieur de la cellule; les forces de cohésion s'opposant à la déformation de la cellule, il n'y aura ni phagocytose, ni étalement.

c, $(S_{1.2} - S_1) > 0$; c'est la condition de l'étalement et de la phagocytose. Cette condition implique donc une tension interfaciale (cellule/particule) supérieure à la tension interfaciale (particule/eau). C'est là un résultat inattendu, et cependant, cette conclusion théorique semble trouver des confirmations d'ordre expérimental.

Les expériences de MUDD et BARCLAY (26), de MUDD et MUDD (27) permettent d'envisager la surface des leucocytes comme constituée par des substances de propriétés intermédiaires (au point de vue capillaire) entre les triglycérides et l'eau — corps comparables à ce point de vue aux phosphatides ou aux globulines naturelles. L'expression $(S_{1.2} - S_1) > 0$ rendrait compte avant tout de la non-phagocytose des globules d'huile en absence d'agents émulsifiants et de leur phagocytose en présence de pareils agents (mêmes conditions, naturellement, pour l'adhésion aux surfaces). Le même raisonne-

ment est valable en ce qui concerne l'action capillaire des anticorps sur les bacilles acido-résistants, mise en évidence par MUDD et MUDD (27); MUDD, LUCKÉ, MC CUTCHEON et STRUMIA (29); LUCKÉ, MC CUTCHEON, STRUMIA et MUDD (29), et MC CUTCHEON, STRUMIA, MUDD, MUDD et LUCKÉ (29) ⁽¹⁾.

D'un autre côté cette expression permet d'expliquer l'action opsonique qu'exerce le sérum pour la phagocytose de certains corps, et l'absence d'une pareille action vis-à-vis d'autres corps (OUWELLEEN, FENN).

En troisième lieu, cette expression implique, pour la réalisation de la phagocytose et de l'étalement, une certaine valeur de $S_{1,2}$ supérieure à celle de S_1 . Autrement dit — pour des valeurs positives de S_1 — les corps sont phagocytés non point parce qu'ils possèdent une surface identique (au point de vue capillaire) à celle des phagocytes; mais, au contraire, parce que leur surface est, dans une certaine mesure, différente de celle des phagocytes. Là encore, l'expérience semble en accord avec les prévisions mathématiques. MUDD et MUDD (24, 27) montrent que les bactéries (non acido-résistantes) normales sont en équilibre capillaire à l'interface eau/triglycérides (exactement comme les leucocytes); l'action des anticorps a pour effet de diminuer l'affinité des bactéries pour la phase organique, ... « comme si elles se trouvaient recouvertes d'une couche de globulines dénaturées »; autrement dit, l'action des anticorps a pour effet de créer une différence (toujours au point de vue capillaire) entre la surface des leucocytes et celle des bactéries. Ce même raisonnement ne pourrait-il pas fournir une explication de ce fait que les amibocytes ne phagocytent pas *normalement* les cellules propres de l'organisme (et, en particulier, leurs semblables), tandis qu'ils phagocytent toutes sortes de particules étrangères et les cellules altérées? — faits que la formule de TAIT ne permet pas de prévoir. MUDD et MUDD (27) montrent que le chauffage modifie la mouillabilité des leucocytes dans le même sens que l'action des anticorps modifie celle des Bactéries.

(1) Le fait que les amibocytes n'ingèrent pas de gouttelettes d'huile et ne s'étaient de leur gré sur des surfaces grasses, tandis qu'ils sont *passivement* adsorbés à l'interface eau-huiles, indique bien que les propriétés capillaires sont très différentes — au niveau des pseudopodes, ou une fois les pseudopodes rétractés.

On peut donner encore une application à l'expression mathématique de la théorie capillaire. On connaît de nombreux cas où des cellules immobiles dans le liquide sont, cependant capables de phagocytose et d'étalement (¹). Or, suivant le raisonnement précédent, la condition de formation de pseudopodes pétaloïdes dans l'espace est donnée par l'expression $S_2 < 0$; tandis que l'étalement et la phagocytose pourraient avoir lieu aussi en présence d'une valeur positive de S_2 , à la condition que $\left(\frac{S_1 - S_{1.2}}{S_2}\right) \geq + 1$ (PONDER), donc que $(S_1 - S_{1.2}) \geq S_2$. Les conditions d'étalement et de phagocytose sans formation de lames hyaloplasmiques sont alors données par l'expression : $0 < S_2 \leq (S_1 - S_{1.2})$; cette expression pourrait rendre compte de cette propriété des cellules, connue sous le nom de « stéréotropisme » (HARRISON et LOER), dont l'interprétation anthropomorphique a été vivement critiquée par LEWIS (22).

Nous voyons que l'introduction d'une valeur négative de S_2 dans la formule de TAIT-PONDER conduit à des développements conformes aux résultats expérimentaux. L'avenir seul pourra montrer si l'application de cette expression peut être généralisée.

En attendant contentons-nous de souligner qu'elle fournit une base mathématique à la distinction profonde qui existe entre le mode d'ingestion des Protozoaires à lobopodes et celui des amibocytes, distinction qui, elle aussi, est d'ordre empirique.

Genèse et constitution des grains spécifiques des leucocytes.

A l'époque héroïque du chondriome, l'idée fut généralement admise de l'origine mitochondriale des grains leucocytaires (voir en particulier DUBREUIL, 13). On démontra ensuite de divers côtés que cette filiation était basée sur des figures résultant d'une fixation mitochondriale défectueuse. Chez les Sipunculidés il arrive aussi qu'à la suite d'une fixation défectueuse, les chondriocones fragmentés peuvent être confondus avec de jeunes grains leucocytaires, ou, qu'à la suite d'une différenciation insuffisante, certains grains retiennent le colorant mitochondrial; enfin, l'action post-vitale trop prolongée du vert Janus se traduit par la coloration des grains spécifiques des petits granulocytes. Mais dans les préparations bien

(¹) La phagocytose par des cellules immobiles a été constatée par DE HAAN (22) pour les leucocytes de cheval; par GLASER (18) pour ceux de *Melanophus*; par PAULOT (22) pour ceux des chenilles de *Liparis*.

réussies, aussi bien qu'au cours de colorations post-vitales convenablement équilibrées, l'opposition de formes et de teintes entre le chondriome et les grains leucocytaires est toujours suffisante pour qu'il ne puisse subsister aucun doute sur l'indépendance de ces deux sortes d'éléments (Pl. IV, fig. 20, 24 et 32).

Le problème est plus délicat en ce qui concerne les rapports de filiation possibles entre les grains leucocytaires et le vacuome. DORNESCO (31) montre que les grains des leucocytes éosinophiles des Batraciens dérivent d'éléments du vacuome. On sait que, dans un grand nombre de cas, les grains des éosinophiles de Vertébrés se colorent sur le vivant par les colorants du vacuome, sans toutefois qu'une filiation entre vacuome et grains spécifiques ait été étudiée avec plus de détails (voir, par exemple, LEWIS et LEWIS, 25).

La formation endovacuolaire des grains leucocytaires est, vraisemblablement, un processus assez répandu. C'est le cas, notamment, des grains de cellules sphéruleuses chez les Sipunculidés (voir plus haut, p. 153 et pl. VII, fig. 5, 17, 18). Les imprégnations métalliques donnent des résultats en accord avec les colorations vitales. Ici on voit tous les termes de passage entre de fines vacuoles intensément colorables par les colorants vitaux du vacuome et imprégnables par l'argent et l'osmium et les grains mûrs, réfractaires aussi bien aux colorations vitales qu'aux imprégnations métalliques : colorabilité et imprégnabilité diminuent parallèlement au fur et à mesure de la condensation du contenu vacuolaire.

Tout différent est le cas des amibocytes granuleux (*g.* et *G.*). Ici aussi les vacuoles les plus grosses sont légèrement plus pâles que les petites, aussi bien après coloration vitale qu'après imprégnation métallique ; mais, à cela près, il n'existe aucune transition entre les éléments du vacuome et les grains. D'autre part, à côté des grains les plus gros, on peut distinguer sur le vivant, dans de bonnes conditions optiques, une multitude de grains plus fins (beaucoup plus fins que la majorité des éléments du vacuome). Les grains les plus petits se situent à la limite de la visibilité microscopique. Comme nous l'avons indiqué antérieurement (p. 152), tous les termes de passage, reliant ces grains minuscules aux gros grains mûrs, sont visibles, aussi bien sur le vivant que sur les préparations fixées. Bref, les grains spécifiques des amibocytes ne dérivent pas des

grosses vacuoles ; ce qui n'exclut pas la possibilité d'une formation des petits grains aux dépens des éléments les plus fins du vacuome, eux-mêmes à peine perceptibles. Si cette dernière hypothèse ne peut être exclue *a priori*, elle paraît, néanmoins, très peu vraisemblable. La présence, parmi les petits grains, de nombreuses formes en haltère ou en diplocoque pourrait suggérer l'idée d'une multiplication de ces grains par bipartition ; mais il faut noter que le nombre total des grains contenu dans un amibocyte est beaucoup plus grand au premier stade (G_1) qu'au second (G_2) ; ces figures traduiraient donc, plutôt, une *fusion* des jeunes grains. Si nous prolongeons cette interprétation aux dimensions ultra-microscopiques, il en ressort que les grains au premier stade semblent naître par la concrétion (ou le « démasquage ») progressive d'un constituant du cytoplasme préalablement diffus.

Nous avons parlé de la constitution des grains spécifiques des granulocytes dans un travail antérieur (MARCOU et VOLKONSKY, 33). Au premier stade, ils sont de constitution protéique (réaction de Derriens et Turchini, de Millon-Denigès, d'Abderhalden). Les grains des petits granulocytes donnent, en présence de ninhydrine, une réaction plus intense que ceux des grands. Au deuxième stade, il s'y surajoute un histolipoïde. Cette transformation est accompagnée par l'apparition d'une éosinophilie intense.

Une propriété curieuse des grains spécifiques des grands granulocytes consiste dans leur diffluence subite sous l'action de l'eau de mer. En traitant par l'eau de mer un grand granulocyte au stade 2 (G_2) fortement étalé sur la lamelle, on peut observer sous le microscope le phénomène suivant : un grain fortement réfringent, devient subitement invisible ; à sa place persiste une petite lacune claire qui s'efface progressivement ; les grains subissent un à un le même sort ; parallèlement, le cytoplasme de l'amibocyte, ainsi appauvri, se rétracte. LEO LÆB (20) observe un phénomène analogue dans les granulocytes de *Limulus* sous l'action de solutions salines hypotoniques et montre que ce phénomène n'est nullement léthal. La solubilité de l'histolipoïde éosinophile des grains spécifiques dans l'eau de mer permet de croire que ce corps se trouve à l'état d'une combinaison lipo-protéique (comme dans le cas de NEUMANN, 26), ou qu'il appartient au groupe des lipoïdes de HANSTEEN-CRANNER (22) et de GRAFE (25) dispersibles dans l'eau.

« *Granula* », « *vacuoles* » et « *vacuome* ».
« *Progastrioles* » et « *gastroles* ».

Les anciens auteurs qualifiaient de « vacuoles » toutes les cavités intracellulaires possibles. Ils allaient ainsi jusqu'à parler de « vacuoles formées par la dissolution des graisses au cours de la déshydratation », dans les coupes. Mais, même en réservant le terme de « vacuoles » aux gouttelettes aqueuses existant au sein du cytoplasme de la cellule vivante, nous nous trouvons en présence d'éléments de natures très différentes. Il existe d'abord des vacuoles endogènes et préexistantes à tout traitement de la cellule, qui se colorent par les colorants vitaux basiques et constituent le vacuome. Ces éléments peuvent avoir une consistance semi-solide et constituent alors les « N. R. Granula » des auteurs allemands. « Vacuole » et « granulum » ne sont que deux aspects d'un même élément (VON MÖLLENDORFF, 20 ; PARAT, 28). Viennent ensuite les vacuoles endogènes, néoformées sous l'action d'un excès de colorant basique (CHLOPIN) et celles formées sous l'action des colorants acides (MÖLLENDORFF). Les Protistes possèdent en plus un système de vacuoles pulsatiles, à caractères bien définis. Toute cellule phagocytaire peut enfin contenir des vacuoles digestives, d'origine exogène (plus exactement : d'origine mixte, voir p. 190), le plus souvent chargées de particules solides, parfois à contenu entièrement liquide (*Glaucoma piriformis* cultivé en milieu liquide, d'après LWOFF, 25 ; « pinocytes » de LEWIS, 31). La multiplicité des vacuoles prête souvent à confusion, notamment en ce qui concerne l'application de la notion de « vacuome ».

Il est encore souvent malaisé à l'heure actuelle d'enraciner la notion que dans de nombreux cas, où la totalité du vacuome d'une cellule est représentée par des « granula », toutes les « vacuoles » présentes sont autre chose que du vacuome. Jamais le caractère évocateur du mot « vacuole » n'a porté préjudice plus grand à la notion de « vacuome » qui lui est malheureusement apparentée.

En guise de « vacuoles », DANGEARD ne trouve chez les Protozoaires que des vacuoles digestives, qu'il est amené à considérer comme constituant ici le vacuome. Dans un travail sur la coloration vitale des Protozoaires, RUMIANTZEFF et KEDROWSKI (26) décrivent des « granula » intra-cytoplasmiques et des « vacuoles ». Fort de

ses observations sur les cellules végétales, GUILLIERMOND (27) interprète ces « granula » comme des floculats endo-vacuolaires, secondairement émigrés dans le cytoplasme. Enfin COSMOVICI (31) se sert de l'interprétation de GUILLIERMOND (basée elle-même sur un malentendu) pour édifier une théorie originale où les « granula » sortiraient des vacuoles digestives (considérées comme représentant le vacuome) pour véhiculer à travers le cytoplasme les substances alimentaires (1). Les auteurs opposent encore souvent les « vacuoles » des Végétaux aux « granula » des cellules animales. Ils considèrent les précipités granuleux endovacuolaires des cellules végétales comme homologues des « granula » animaux (voir l'exposé de GICKLHORN, 31). Ayant ainsi homologué des formations non homologues, ils se trouvent tout étonnés de voir les colorants vitaux former des « granula » au sein du suc cellulaire des cellules végétales, tandis que, chez les animaux, les « granula » se trouvent au

(1) Dans un dernier travail (Cosmovici, 31), cette théorie prend sa forme, semble-t-il, définitive (la théorie « canaliculaire » qui, selon son auteur « peut ... seule ... expliquer le complexe des phénomènes physico-chimiques qui siège dans le cytoplasme »). Nous profiterons de cette occasion pour dire deux mots sur la question du tube digestif des Infusoires.

L'existence d'un tube digestif continu chez les Infusoires a été admise au cours de ces dernières années, successivement, par V. KOERING (30) et par COSMOVICI (30, 31). Dans le premier cas, c'est une simple vue théorique, où l'argument invoqué (allongement des vacuoles digestives au moment de la déglutition) indique une méconnaissance des travaux de BOZLER (24). On peut, d'ailleurs, se demander, comment les vacuoles digestives pourraient se dépasser les unes les autres dans le mouvement de cyclose (MÉTALNIKOFF, 12; DUNIHUE, 31) sans produire de « torsions intestinales » très graves?

Le deuxième cas est plus intéressant : COSMOVICI met effectivement en évidence un « tube digestif ». Mais on peut alors se demander si ce « tube » n'est pas fabriqué au moment même de l'expérience. CHATTON avait déjà décrit chez les Infusoires un allongement des vacuoles digestives dans certaines conditions. Dans le cas de COSMOVICI, le phénomène est poussé bien plus loin. L'étude de la formation des vacuoles digestives en fonction des lois de POISEUILLE, relatives à la formation des gouttes liquides (en tenant compte de la viscosité du milieu et de la tension superficielle du protoplasme), mériterait une étude spéciale. De toute façon, les résultats des colorations vitales et des imprégnations métalliques de COSMOVICI montrent bien que si un tube digestif continu avait existé normalement dans les Infusoires, ce tube aurait été mis en évidence. Enfin, DOGIEL (30) démontre d'une façon irréfutable qu'on peut provoquer la fusion des vacuoles digestives en un « tube digestif » continu chez *Paramecium* par l'action de diverses solutions salines, et que ce phénomène est réversible. Le procédé de COSMOVICI ne peut être envisagé comme une « méthode de mise en évidence », mais bien comme un « procédé de fabrication » du « tube digestif ».

sein du cytoplasme. La discordance provient ici du fait que le mot « granulum » s'applique chez les Végétaux aux floculats granuleux endovacuolaires (préexistant à la coloration ou résultant de celle-ci), tandis que, chez les animaux, le « granulum » correspond à la totalité d'un élément du vacuome.

On sait pourtant que les grandes vacuoles des cellules végétales proviennent de l'hydratation et de la fusion de « primordia » ténus, nombreux et semifluides (voir la bibliographie in GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL, 33), comparables au vacuome animal. Dans les cellules animales, on connaît, d'ailleurs, des cas où le vacuome est représenté par une vacuole unique, occupant la majeure partie de la cellule (p. ex. dans les cellules de soutien des tentacules de *Spirographis*, dans les « cellules acides » du sang des Ascidies). Nous nous trouvons toujours en présence d'un même système, tantôt dispersé sous forme d'un grand nombre de fins éléments isolés, tantôt assemblé en un élément unique (parfois, unique pour un thalle multinucléaire). La grande instabilité du système vacuolaire a été étudiée sur le vivant, en particulier chez *Saprolegnia* (Mlle CASSAIGNE, 31). Un autre exemple de l'instabilité morphologique du vacuome nous apparaît dans le cas des glandes salivaires de la larve de Chironome, où les petites vacuoles fusionnent en un élément parfois unique à un moment donné du cycle sécrétoire (PARAT et PAINLEVÉ, 24). NOUVEL (33) montre que la vacuole géante des cellules axiales des Dicyémides provient de la fusion de nombreux primordia semifluides.

Ceci nous oblige à préciser la nomenclature que nous adopterons désormais. Nous réserverons le terme de *vacuoles* pour désigner les éléments endogènes (sauf les vacuoles pulsatiles). Parmi celles-ci, les vacuoles endogènes, préexistantes à la coloration vitale (et qui constituent le vacuome) seront appelées de préférence *éléments du vacuome*. Nous emploierons le terme de *vésicules contractiles* et de leurs *primordia* pour désigner les éléments du système pulsatile des Protistes. Nous introduirons, enfin, deux termes nouveaux pour désigner les vacuoles digestives des cellules phagocytaires :

Nous appellerons *progastrioles* l'ensemble constitué par les particules ingérées et l'enveloppe aqueuse qui entoure ces particules (ou les gouttelettes ingérées par pinocytose).

Nous appellerons *gastroles* les progastrioles enrichies par le déversement à leur intérieur des éléments du vacuome. Ainsi, chez

une Paramécie, une progastriole se transforme en gastriole au moment où les « grains acidophiles » (NIERENSTEIN) se dissolvent à son intérieur. L'importance de la partie aqueuse d'une progastriole varie dans de larges mesures suivant le mode de phagocytose propre à la cellule. Ainsi, dans les choanocytes d'Eponges, cette partie est invisible et la progastriole paraît uniquement constituée par le grain phagocyté. La gastriole est d'origine mixte : exogène (progastriole) + endogène (vacuome). L'intervention quantitative de ces deux constituants de la gastriole varie également dans une large mesure : c'est l'élément exogène qui domine de beaucoup dans le cas d'une Paramécie, l'élément endogène, dans le cas d'un choanocyte.

Nous reviendrons à la fin de ce mémoire sur la justification des coupures précédemment établies.

Conclusions.

Un certain nombre de données ressortant de la description cytologique des cellules sanguines des Sipunculidés ont été discutées dans ce dernier chapitre afin de mettre au clair certaines questions dont l'importance apparaîtra à la lecture des chapitres suivants.

De cet exposé retenons les conclusions suivantes :

Les amibocytes contiennent dans leur cytoplasme :

1. Des chondriosomes, dont une partie se tasse autour du centre cellulaire et peut se différencier en lépidosomes.

2. Des vacuoles endogènes colorables par les colorants vitaux basiques et imprégnables par l'argent et l'osmium, vacuoles qui constituent le vacuome ou « appareil de ségrégation » ; à la suite de certaines fixations, le contenu floclé de ces vacuoles peut être mis en évidence à l'aide de colorants histologiques. Certaines de ces vacuoles peuvent augmenter de taille, tandis que leurs caractères spécifiques s'atténuent. Une forte hydratation du vacuome dans les amibocytes très étalés provoque la formation de « lacunes » claires.

3. Les amibocytes granuleux contiennent, en plus, des grains spécifiques, indépendants du chondriome et du vacuome. Ces grains sont de constitution protéique ou lipo-protéique. Lorsqu'on rem-

place le liquide cœlomique par de l'eau de mer, les grains spécifiques des grands granulocytes peuvent éclater et laisser diffuser leurs substances constitutives au dehors.

Les amibocytes contiennent des lipoïdes masqués, répartis entre les lames hyaloplasmiques, la zone périvacuolaire et les grains spécifiques. Une répartition semblable des histolipoïdes ne ressort pas directement de la loi de Gibbs.

Le jeu des forces de poussée interfaciale, équilibrées par des forces de cohésion intermoléculaire, peut être envisagé comme assurant le mécanisme immédiat de la formation et du maintien des lames hyaloplasmiques. L'introduction d'une valeur de tension interfaciale négative dans la formule de TAIT-PONDER permet d'envisager la théorie capillaire de l'étalement et de la phagocytose sous un aspect nouveau.

Pour éviter toute confusion possible entre les différentes structures intracellulaires, portant le nom de « vacuoles », nous réservons ce nom aux éléments endogènes (sauf les vésicules contractiles) et créons deux termes nouveaux : « progastrioles » et « gastrioles », pour désigner les formations de nature phagocytaire, exogènes ou d'origine mixte.

Ces considérations, qui se dégagent des pages précédentes, servent en même temps d'introduction aux chapitres suivants, en reliant ainsi la description cytologique à l'étude de la phagocytose et de l'accumulation des colorants acides.

II. — LA PHAGOCYTOSE

Introduction.

Le phénomène de phagocytose comprend deux grandes étapes : l'ingestion et la digestion intracellulaire.

Le mécanisme de l'ingestion de particules étrangères par les cellules a été maintes fois l'objet d'études approfondies. Nous parlerons plus loin (p. 227) des théories relatives à cette question. On a suivi également l'évolution des particules phagocytées et la destinée des phagocytes chargés de particules. Dans le cas particulier des Sipunculidés, ces dernières questions ont été étudiées en détail par

J. CANTACUZÈNE (28). Par contre, l'étude *cytologique* de la réaction cellulaire à l'ingestion de particules étrangères n'a donné lieu jusqu'à présent qu'à un nombre de travaux restreint.

Avant d'aborder la description de ces phénomènes dans les amibocytes des Sipunculidés, nous résumerons brièvement les données actuelles relatives à cette question.

Depuis METCHNIKOFF (83-92), KOWALEWSKY (88), DE BRUYNES (93), il est couramment admis que les corpuscules, normalement incolores par les colorants basiques, se colorent une fois qu'ils ont été ingérés par un phagocyte ; mais on ne s'est presque pas préoccupé de la cause de ce changement de propriétés (1).

1. Protozoaires.

NIERENSTEIN (05) observe chez les Infusoires la pénétration de granula, colorables par le rouge neutre, à l'intérieur des vacuoles digestives. La digestion du bol alimentaire ne débute qu'à la suite de la pénétration de ces granula ; ceux-ci seraient donc porteurs de ferments digestifs. Pour HORNING (26, 27, 28) et CAUSEY (25, 26), ce seraient les chondriosomes qui, chez les Infusoires et les Amibes, pénétreraient à l'intérieur des vacuoles digestives et seraient les vecteurs de ferments. CAUSEY (26) décrit chez une Amibe la genèse « d'appareils de Golgi » aux dépens des résidus phagocytaires.

Nous mêmes retrouvons ces « granula » chez une série d'Infusoires et les homologons au vacuome des Métazoaires. Nous n'observons jamais de pénétration de chondriosomes dans les gastrioles ; ce sont, à notre avis, les éléments du vacuome qui sont les porteurs de ferments. HALL et NIGRELLI (30), chez *Vorticella*, confirment nos observations relatives au chondriome : ils ne trouvent « aucune relation définie » entre ce dernier et les gastrioles. KOERING (30), HALL et DUNIHUE (31), DUNIHUE (31) n'observent pas de pénétration des éléments du vacuome dans les vacuoles digestives de

(1) BRUNO HOFER (50) trouve que les Infusoires ingérés par les Amibes se colorent en brun foncé sous l'action du brun Bismarck. PLATO (00) observe que les gonocoques phagocytés par des leucocytes se colorent vivement par le rouge neutre. HIMMEL (02) fait une observation analogue sur des grains de talc. Selon ERZ (cité d'après C. ST-HILAIRE), le contact avec un phagocyte suffirait pour rendre une particule colorable.

Vorticella et de *Paramœcium*. Pour eux, le vacuome jouerait un rôle dans les processus anaboliques.

2. Métazoaires.

C. ST-HILAIRE (24) observe, sur les leucocytes d'une série d'Invertébrés et de Vertébrés, que la colorabilité des particules ingérées prend place à la suite de la confluence de ces particules avec des vésicules préexistantes, colorables elles-mêmes par les colorants vitaux basiques; le même phénomène s'observe dans les cellules phagocytaires de l'intestin des Planaires (ST-HILAIRE, 10). La confluence des vésicules colorables *in vivo* avec les grains phagocytés crée des conditions favorables à la digestion de ces grains; de là, l'existence probable de ferments à l'intérieur des « vésicules ».

MATSAMUTO (18) observe que les grains d'encre de Chine, ingérés par les phagocytes de la cornée, restent indépendants des granula préexistants et ne se colorent pas par les colorants vitaux, tandis que, pour EVANS et SCOTT (20), les particules ingérées se concentreraient au niveau de vacuoles préexistantes (notion de « segregation apparatus »). SMITH (21), SMITH, WILLIS et LEWIS (22), LEWIS et LEWIS (25, *bibliogr.*) étudient les monocytes, les fibroblastes, les macrophages de différents Vertébrés en culture et montrent que les particules phagocytées, d'abord logées à nu dans le cytoplasme, s'entourent ensuite de vacuoles colorables. Ce dernier phénomène pourrait faire défaut, et alors la digestion de cellules mortes ou de bactéries prendrait place sans qu'il y ait formation de vacuoles (M. LEWIS, 23). RUMIANTZEFF (28) observe dans les cellules en culture une accumulation d'encre de Chine au niveau de « l'appareil de ségrégation » (vacuome).

Sans connaître les travaux de ST-HILAIRE, nous décrivons (30) dans les choanocytes des Éponges calcaires la confluence des éléments du vacuome avec les grains phagocytés (« réaction vacuolaire »). La digestion débute après cette confluence. Nous en concluons à la présence probable de ferments dans le vacuome. La « réaction vacuolaire » est suivie d'une « réaction chondriosomique » qui consiste en un accolement de chondriosomes à la paroi externe de la gastriole, phénomène qui semble lié à la phase anabolique de la nutrition phagocytaire.

La « réaction vacuolaire » (VOLKONSKY, *loc cit.*) n'est nullement un phénomène constant : certains corpuscules phagocytés restent indéfiniment indépendants du vacuome (carmin, Soudan III). Il en résulte la notion d'une certaine *électivité* de la « réaction vacuolaire ».

TCHÉU-TAÏ-CHUIN (30) constate l'existence d'une réaction vacuolaire et chondriosomique au cours de la digestion intracellulaire dans les cellules endodermiques phagocytaires du Scyphistome de *Chrysaora*. H. NOUVEL (33) observe la confluence du vacuome autour de spermatozoïdes de Céphalopodes phagocytés par les cellules ectodermiques des Dicyémides.

Description de la phagocytose des amibocytes des Sipunculidés.

Ce sont les amibocytes hyalins et les granulocytes (grands et petits) qui sont doués de pouvoir phagocytaire. Les plus actifs chez le Siponcle sont les grands hyalins ; les grands granulocytes le sont assez peu. Chez le Phascolosome, les différents amibocytes sont sensiblement aussi actifs les uns que les autres. Nous avons noté précédemment (MARCOU et VOLKONSKY, 33) que les amibocytes des Sipunculidés pouvaient être grossièrement divisés en « macrophages » et en « microphages » : les premiers (grands hyalins et grands granulocytes) étant capables de phagocyter des proies de la taille d'une hématie de Sipunculidé, les seconds assurant en grande partie la phagocytose de suspensions fines.

Dans les expériences que nous allons décrire, nous nous sommes servi de grains d'amidon de riz, de globules de lait, d'hématies d'homme ou de mouton, de *Pleurococcus* sp., ou de poudres colorées (carmin n° 40, Soudan III).

Examen sans coloration. — Après avoir été englobées par les lames hyaloplasmiques, les particules pénètrent au sein du granulo-plasme. Ici elles n'occupent pas de position bien définie et sont charriées de ci de là au cours des déplacements de l'amibocyte. Il y a pourtant un lieu de prédilection où les enclaves phagocytaires ont tendance à s'accumuler, dans les limites où le permettent les déformations cellulaires : c'est au niveau du cytocentre, contre la face concave du noyau. C'est à ce niveau, semble-t-il, que la digestion se passe dans les meilleures conditions. Cependant, lorsque le

centre cellulaire est déjà occupé par d'autres enclaves phagocytaires, ou lorsqu'un étalement trop considérable de l'amibocyte empêche la migration des particules, la digestion peut se poursuivre régulièrement en tout autre point du granuloplasme.

Les premiers instants après leur pénétration dans le granuloplasme, les particules ingérées apparaissent indiquées par un double contour, mais il est bien difficile de dire si cet aspect doit être attribué à la présence d'une couche liquide extrêmement mince autour des particules, ou s'il persiste autour d'elles une capsule hyaloplasmique provenant des pétaloïdes. Par la suite, les particules subissent des destinées différentes suivant leur nature : les grains de carmin ou de Soudan restent inchangés, tandis que les particules digestibles se trouvent logées à l'intérieur d'espaces aqueux (gastrioles). Les particules ingérées peuvent s'agglutiner quand elles arrivent au contact les unes des autres. Il se forme ainsi des bols alimentaires de taille très considérable, comme c'est le cas, en particulier, dans les grands hyalins du Siponcle. L'origine, pour ainsi dire, synthétique de ces bols est bien démontrée par ce fait qu'on y trouve des particules alimentaires à des stades de digestion très différents (par exemple, dans le cas d'hématies de Mammifères, Pl. VIII, fig. 9).

Il ne faut pas confondre les gastrioles entourant les particules ingérées avec les grandes lacunes claires d'une origine différente qui apparaissent dans les macrophages très étalés des Sipunculidés. L'origine de ces formations est, semble-t-il, multiple : dans certains cas il s'agit probablement de « pinocytose » (LEWIS, 31, décrit, sous le nom pittoresque de « pinocytes », des cellules capables de constituer des gastrioles à contenu entièrement liquide); d'autre part, on constate dans les grands granulocytes à gros grains, fortement étalés et observés dans l'eau de mer, un phénomène d'éclatement des grains (voir plus haut), qui provoque l'apparition de petites lacunes claires; enfin (ceci toujours dans les amibocytes fortement étalés) une hyperhydratation des éléments du vacuome provoque parfois la formation de grandes lacunes aqueuses; ces lacunes se distinguent des précédentes par l'existence à leur intérieur de substances qui flocculent en présence de colorants vitaux basiques sous forme de fins granules animés de mouvement brownien (FAURÉ-FRÉMIET, 29, attire l'attention sur les modifications de perméabilité des amibocytes qui doivent résulter de l'accroissement de surface considérable, consécutif à l'étalement).

*Réaction des amibocytes à l'ingestion de particules étrangères.**Comportement du vacuome.*

Pour l'étude du comportement du vacuome au cours de la phagocytose, c'est l'amidon de riz qui représente le matériel phagocytaire le plus commode. En prélevant toutes les 10 minutes une lamelle (dans une série chargée de liquide cœlomique et d'amidon de riz) et en effectuant une coloration vitale au rouge neutre, on observe les phénomènes suivants :

Aussitôt après l'ingestion, un grain d'amidon de riz est entièrement indépendant des éléments du vacuome ; entouré d'une mince enveloppe (hyaloplasmique ou aqueuse ?), ce grain est totalement incolore par les colorants vitaux (Pl. VI, fig. 4, pl. VIII, fig. 1). Au stade suivant, on aperçoit quelques-uns des éléments du vacuome collés au contour externe de l'enveloppe du grain, en dépit des déplacements que ce dernier subit au cours des mouvements de l'amibocyte (Pl. VI, fig. 1a, 5). Le nombre des vacuoles accolées augmente, et il se constitue à la longue une « rosette » vacuolaire autour du grain d'amidon. Ce stade « rosette », très caractéristique, persiste pendant un certain temps.

Ensuite, le contenu des vacuoles, coloré en rouge, semble diffuser à travers l'enveloppe externe du corps phagocyté : en regard de chacun des éléments du vacuome, il se forme une mince auréole rouge pâle au contact de la surface propre de l'amidon (Pl. VI, fig. 1b, c, d). Ensuite les auréoles voisines se rejoignent et forment une couche rouge continue : ébauche de la gastriole. La diffusion des substances constitutives du vacuome, dans la zone qui est comprise entre les deux contours concentriques limitant le grain d'amidon, montre bien que cette zone représente une enveloppe aqueuse : une cavité progastriolaire très réduite.

Les éléments du vacuome finissent par se déverser complètement dans la gastriole. Celle-ci augmente légèrement de volume, en même temps que sa colorabilité diminue (Pl. VI, fig. 10, 4, 6). La totalité du vacuome d'un amibocyte peut participer à la formation d'une gastriole (Pl. VI, fig. 6, 8, 10). Cependant, nous avons signalé (p. 150) l'existence dans les amibocytes (surtout dans les macrophages) de vacuoles un peu plus grosses et moins colorables

que les éléments normaux du vacuome. Nous n'avons jamais vu ces vacuoles modifiées participer à la formation des gastrioles (Pl. VI, fig. 9 et pl. VIII, fig. 3).

Dans les granulocytes mûrs, grands et petits (G_2 et g_2), très pauvres en vacuome, il y a certainement néoformation réflexe de vacuoles à la suite de la phagocytose : le nombre des vacuoles, constituant les rosettes, dépasse sensiblement le nombre des vacuoles normalement présentes dans ces mêmes amibocytes. Dans les petits granulocytes de *Phascolosoma*, les gastrioles prennent une teinte bleue sous l'action du bleu de crésyle brillant, tandis que la coloration du vacuome et des gastrioles des autres amibocytes est violette (Pl. VI, fig. 7).

Dans les gastrioles, le pouvoir de concentration des colorants vitaux décroît progressivement. Avec une certaine concentration de colorants (que nous n'avons pas précisée), on peut obtenir une coloration du vacuome seul. NIERENSTEIN (05), puis KOERING (30) avaient déjà fait une observation analogue dans le cas des Infusoires. Cette chute du pouvoir de concentration tient non seulement à la dilution des substances vacuolaires au sein des gastrioles, mais, sûrement aussi, à l'élévation du pH qui fait suite à la transformation des progastrioles en gastrioles : en présence de rouge neutre, la teinte prise par les gastrioles des amibocytes tire nettement plus sur le jaune que celle des éléments du vacuome.

Nous avons essayé de suivre sous le microscope la progression de la réaction vacuolaire après coloration au rouge neutre, comme NIERENSTEIN l'avait fait dans le cas des Paramécies, et nous-même (30) dans celui des choanocytes d'Éponges. Dans le cas des amibocytes, le phénomène apparaît d'abord ralenti, puis très rapidement inhibé. Le rouge neutre modifie donc apparemment les propriétés physiques des éléments qu'il colore (ce qui est bien naturel). Dans les amibocytes, cette action du rouge neutre est plus marquée que dans les choanocytes d'Éponges, probablement à cause de la forte coloration nécessaire pour la mise en évidence des vacuoles (en raison de leur petitesse).

Néanmoins, la réalité du phénomène d'épanchement des vacuoles à la surface des grains ingérés ne peut faire de doute. Si nous n'avons pu suivre d'un bout à l'autre l'évolution d'une même gastriole, nous avons observé sur des gastrioles différentes toutes les étapes successives (accolement, déversement) de cette évolution.

Les résultats des examens sur le vivant sont, d'ailleurs, corroborés par les résultats des imprégnations métalliques. En faisant, à temps voulus, des fixations et des imprégnations, on observe, en noir, des figures identiques à celles obtenues avec le rouge neutre. Les figures 1-8, Pl. VIII, représentent des amibocytes ayant ingéré des grains d'amidon et imprégnés à l'osmium (technique de Mann-Kopsch). On y voit des grains d'amidon phagocytés absolument incolores et indépendants du vacuome imprégné (Pl. VIII, fig. 1) (le contour gris qui indique les grains d'amidon sur les figures représente une « ligne de réfringence » ; à un éclairage plus fort, les grains apparaissent comme de simples espaces incolores) ; d'autres grains sont intimement entourés de corpuscules osmiophiles (vacuome) (Pl. VIII, fig. 2, 3, 4, 5). La confrontation de la figure 5 (Pl. VIII) avec la figure 6 (Pl. VII) montre bien en quoi consiste la « réaction vacuolaire ».

La réaction vacuolaire autour des hématies (d'homme ou de mouton) et des globules de lait diffère légèrement du schéma précédent, notamment en ce qui concerne le stade « rosette » : les éléments du vacuome, qui viennent s'accoler les uns après les autres à la surface des progastrioles, y pénètrent au fur et à mesure de cet accolement, sans subir le temps d'arrêt qui caractérise la réaction vacuolaire autour des progastrioles à amidon. Le stade « rosette » est donc réduit à peu de chose : on voit tout au plus 3 ou 4 vacuoles à la fois accolées à une même progastriole, et le liquide progastriolaire s'enrichit graduellement en substances vacuolaires (Pl. VI, fig. 2a, b ; 3a-c). Ceci rend les figures d'envacuement peu explicites et montre pourquoi l'amidon de riz est un matériel de choix pour l'étude de la réaction vacuolaire ; sans cet exemple on serait tenté de croire à une néoformation de gastrioles autour des hématies et des globules de lait.

Les gastrioles à lait ou à hématies, une fois constituées, acquièrent un volume beaucoup plus considérable que celles à amidon (ceci surtout dans le cas des hématies).

La phagocytose de toutes les particules dans une même préparation n'étant pas instantanée, il est évident que les figures de formation des gastrioles sont légèrement asynchrones. Cependant, en tenant compte de l'apparition des stades *les plus avancés*, on peut évaluer *grosso modo* la vitesse du phénomène dans les différents cas. On voit ainsi que la formation de gastrioles autour des globu-

les de lait est la plus rapide; les hématies viennent ensuite; puis les grains d'amidon de riz et aussi les cellules de *Pleurococcus* sp.

Les globules de lait sont digérés, et les gastrioles qui les contiennent apparaissent après fixation chargées de fins précipités osmio-réducteurs.

Les hématies sont lysées et changent d'affinités tinctoriales (Pl. VIII, fig. 9-14). Les grains d'amidon montrent des signes d'altération (réaction à l'Iode), mais ne sont pas dissous en 24 heures. Les cellules de *Pleurococcus* sont progressivement vidées; il n'en persiste que la membrane cellulosique.

Enfin, les grains de carmin et de Soudan III ne provoquent aucune réaction vacuolaire. L'affinité des éléments du vacuome pour les progastrioles est donc influencée dans une large mesure par le contenu des progastrioles. Nous reparlerons plus loin de cette élection de la réaction vacuolaire.

Comportement du chondriome.

Nous avons vu que les particules ingérées par un amibocyte avaient tendance à pénétrer jusqu'au centre cellulaire, dans la partie concave du noyau. Elles se trouvent alors occuper le foyer d'attraction du chondriome. Quel est dans ce cas le comportement du chondriome?

Les colorations post-vitales au vert Janus et les colorations après fixation montrent l'amas chondriosomique aplati (Pl. VIII, fig. 12, 13) ou rejeté sur le côté (Pl. VIII, fig. 11, 14). Certains chondriosomes longent parfois les parois des gastrioles. Mais ce n'est ici qu'un phénomène fortuit. Il n'existe aucune relation définie entre les gastrioles et les éléments du chondriome, sauf que les chondriosomes, aussi bien que les gastrioles, ont tendance à se localiser dans une même région de la cellule.

Dans les choanocytes des Éponges calcaires, nous avons décrit une hypertrophie du chondriome à la suite de la digestion intracellulaire des globules de lait. Un phénomène analogue n'a pas lieu dans le cas des amibocytes de Sipunculidés. Après fixation au B. O. S. U., on voit de fines gouttelettes d'une transsudation lipodique à la surface des gastrioles à lait. Ces gouttelettes sont osmio-réductrices et colorables par la rubine S; mais aucun rapport n'existe entre cette transsudation et les éléments du chondriome.

Aspect cytologique de la digestion intracellulaire.

Protozoaires.

NIERENSTEIN (05) observe la pénétration de « granula acido-philes » à l'intérieur des progastrioles chez les Infusoires. Ces « granula », nous les assimilons (29) aux éléments du vacuome, ou « corps de Golgi ».

KÆRING (30), HALL et DUNIHUE (31), DUNIHUE (31) n'observent pas de pénétration des éléments du vacuome dans les progastrioles chez *Vorticella* et *Paramœcium*.

Depuis, nous avons vérifié les observations de NIERENSTEIN sur les cultures bactériologiquement pures de *Glaucoma piriformis* isolé par A. LWOFF. Dans ce cas, la nutrition s'effectue aux dépens de gastrioles à contenu uniquement liquide, ce qui évite la confusion possible entre les grains de l'appareil de ségrégation (vacuome) et des corpuscules ingérés (1). Nous avons pu suivre ainsi sur le vivant, après coloration vitale, tous les stades de pénétration des éléments du vacuome à l'intérieur des progastrioles.

Citons encore le cas de *Stentor polymorphus*.

Au cours d'études inachevées, nous avons observé un balancement journalier des substances de réserve du couple symbiotique *Stentor polymorphus* + *Chlorella viridis*, accompagné de la multiplication des Chlorelles et de leur digestion par le Stentor.

Le cycle journalier prend l'aspect suivant :

1. — Au coucher du soleil, l'amidon dans les plastes des Chlorelles est au maximum.
2. — Au début de la nuit, l'amidon des Chlorelles diminue et, parallèlement, du glycogène est accumulé par le Stentor au niveau d'enclaves, comparables aux « Glänzkörper » de *Pelomyxa* (Stolk, 00).

(1) Ceci est une réponse à une objection de HALL. HALL et DUNIHUE (31) vont plus loin encore en affirmant que, chez la Vorticelle qu'ils ont étudiée, le vacuome ne présente aucun rapport constant avec les vacuoles digestives. Nous affirmons catégoriquement qu'au cours de nos observations sur les Vorticellidés (*Carchesium polypinum*, *Campanella umbellaria*, *Vorticella campanula*, et plusieurs espèces indéterminées des genres *Vorticella*, *Zoothamnium*, *Epistylis*), nous avons toujours observé une « réaction vacuolaire » au niveau des progastrioles, aussi bien après coloration vitale, qu'après imprégnations argentique (Cajal, Reiss, da Fano) ou osmique (Mann-Kopsch); nous retrouvons, en particulier, des figures analogues à celles que NIERENSTEIN donne pour *Paramœcium*.

3. — Les Chlorelles accumulent alors de la métrachromatine dans leurs vacuoles et entrent en division. A ce moment elles ne possèdent souvent plus que leur amidon pyrénoidal. En même temps le glycogène du Stentor diminue.

4. — La métachromatine disparaît au cours de la division.

5. — La division des Chlorelles est suivie de la digestion d'un certain nombre de celles-ci par le Stentor (dans la matinée). Celles qui subsistent accumulent de l'amidon, et le cycle reprend.

La grande taille des Stentors rend difficile l'examen des Chlorelles sur le vivant. Les résultats des colorations vitales ont donc été étudiés de la façon suivante :

Un Stentor coloré vitalement au rouge neutre est déposé sur une lamelle très propre dans une petite quantité d'eau. Cette eau est ensuite absorbée avec une pipette effilée. Au moment où le corps du Stentor commence à saillir sur la pellicule d'eau, il éclate et sa substance diffue en repoussant le film aqueux à la manière d'une gouttelette d'alcool. Cet étalement protoplasmique est fixé et coloré suivant la technique exposée p. 140.

Si la préparation est faite à un moment quelconque de l'après-midi, la presque totalité des Chlorelles se trouve à l'état normal : chacune contient une vacuole colorée, contenant parfois un granule de métachromatine. Disséminé parmi les Chlorelles, se trouve le vacuôme du Stentor, sous forme de fins granula.

Au contraire, si l'on opère au moment où la digestion des Chlorelles atteint son maximum, on trouve parmi les algues un grand nombre d'individus aberrants (Pl. IX, fig. 1) : certaines, d'apparence normale, sont entourées d'une couronne continue de grains colorés ; ces grains sont parfois plus gros : on pourrait croire à leur confluence ; quelques Chlorelles sont uniformément colorées en rouge ; enfin, on trouve tous les stades intermédiaires entre ces Chlorelles colorées et des résidus digestifs, où ne persiste que la membrane cellulosique plissée et vidée de son contenu. Nous retrouvons donc ici tous les stades successifs qui caractérisent l'aspect classique de la réaction vacuolaire, et plus spécialement le mode que nous avons décrit dans les amibocytes.

D'autre part, le Stentor ingère des proies et l'évolution des progastrioles en gastrololes suit alors le schéma général indiqué par NIERENSTEIN pour les Infusoires. Il semble donc que la différence apparente entre les deux modes (celui des Infusoires et celui des amibocytes) est déterminée essentiellement par la différence de taille initiale des progastrioles.

Disons enfin, qu'au cours d'examen portant sur différentes espèces d'Amibes et de Flagellés à nutrition particulière, et toutes les fois qu'il y avait digestion intracellulaire des corpuscules phagocytés, nous avons toujours observé des figures de réaction vacuolaire autour de ces corpuscules.

A. — *Acanthamœba Castellanii*. — La Pl. IX, fig. 2, représente les aspects caractéristiques de la formation des gastroles autour de levures (*Cryptococcus pararoseus*) ingérées. Les éléments du vacuome semblent naître ici au contact même des progastroles (noter la zone périgastrole diffusément colorée en rouge).

Les mêmes figures peuvent être observées après fixation et coloration, étant donnée l'affinité du vacuome fixé pour les colorants basiques (violet ou azur de méthylène).

B. — *Entamœba dysenteriae*. — Nous avons étudié des Amibes cultivées dans le milieu de DESCHIENS et KIPCHIDZE (30). La figure 3 (Pl. IX) représente une Amibe colorée au rouge neutre et observée à 37° (étuve Pfeiffer). Noter l'absence de réaction vacuolaire autour de grains d'amidon et l'attraction du vacuome par de fines particules (débris de muscle de poisson et, peut-être, bactéries). Cette absence de formation de gastroles autour des grains d'amidon montre tout l'intérêt qu'il y aurait à entreprendre une étude plus détaillée, quant au rôle exact de ce corps dans la culture de l'Amibe dysentérique.

Métazoaires.

Ici le fusionnement du vacuome avec les progastroles a été observé : dans les cellules ectodermiques des Dicyémides ; les choanocytes des Eponges ; les cellules endodermiques des Scyphistomes ; les cellules intestinales des Planaires ; les amibocytes d'une série d'Invertébrés et de Vertébrés (1). Dans les amibocytes des

(1) Nous n'avons pu nous procurer le travail *in extenso* de Constantin SAINT-HILAIRE (04) et avons dû nous contenter d'un résumé de ce travail en langue allemande. Nous devons quelques renseignements supplémentaires à l'amabilité du docteur B. KEDROWSKI. Le travail de SAINT-HILAIRE porte sur les leucocytes d'*Helix*, *Astacus*, *Lumbricus*, *Tenebrio*, *Triton*, *Salamandra*, *Siredon*, *Rana*, *Perca*, étudiés en présence de suspensions diverses : hématies de mammifères et d'oiseaux, de plaquettes vitellines d'œufs d'oiseaux et de grenouille, de grains d'amidon ou de carmin. Les colorations vitales sont effectuées à l'aide de bleu de méthylène ou de sulfalizarinate de Na.

Ici, comme plus tard dans les cellules intestinales des Planaires (SAINT-

Sipunculidés, nous trouvons un nouvel exemple du même processus.

Nous avons observé des étapes successives du même phénomène au cours d'examens (vitaux ou après fixation) de cellules diverses.

A. — *Ovocytes amiboïdes des Eponges calcaires*. — On sait que les jeunes ovocytes des Eponges sont amiboïdes et se nourrissent par phagocytose au sein du mésenchyme. L'ovocyte de *Sycon coronatum* représenté Pl. IX, fig. 4 a été suivi au microscope pendant plus d'une heure. Durant ce laps de temps, nous avons constaté une forte augmentation du nombre de vacuoles accolées à une cellule d'Eponge phagocytée (en haut à droite sur la figure). Une Diatomée, phagocytée moins de 15' auparavant (légèrement altérée sur la figure) n'a provoqué aucune réaction vacuolaire. Notons que le vacuome normal de l'ovocyte occupé à la vitellogénèse (vésicules claires autour du noyau) ne participe pas à la réaction vacuolaire. Toutes les vacuoles qui entourent la cellule phagocytée semblent être nées par une néoformation réflexe à l'ingestion. Des images de différents stades de la réaction vacuolaire dans les ovocytes ont été observées également sur des coupes d'Eponges imprégnées à l'osmium (méthode de Kopsch).

B. — Nous avons observé des figures de réaction vacuolaire autour de globules de lait ingérés par des amibocytes de *Bonnellia viridis* (Pl. IX, fig. 15).

Remarque.

Nous tenons à parer à une dernière objection possible. Dans les cas où nous n'avons pas suivi la réaction vacuolaire autour des pro-

HILAIRE, 10). l'auteur décrit la fusion des progastrioles avec des vésicules intensément colorables par les colorants vitaux, et d'autres, incolores, à contenu aqueux.

En fait de vésicules aqueuses, nous n'avons observé chez les amibocytes que ces sortes de lacunes dont nous avons parlé plus haut (p. 151) et que nous considérons comme des anomalies (comparables en partie, semble-t-il, aux « vacuoles » dégénératives de Lewis, que ROUMIANTZEFF (27) oppose à l'« appareil de ségrégation »). Parfois nous avons constaté aussi un gonflement anormal des gastroles. Tous ces phénomènes sont liés, à notre avis, à des changements de perméabilité, consécutifs à l'étalement des amibocytes étudiés *in vitro*.

D'autre part, SAINT-HILAIRE confond les formes d'aboutissement des gastroles avec des « vésicules » endogènes. En ce qui nous concerne, nous avons toujours pu distinguer entre les résidus ultimes de la digestion intracellulaire et les éléments du vacuome.

gastrioles, mais uniquement observé des stades isolés de ce phénomène, que nous avons reconstitué ensuite par sériation *artificielle*, les figures observées pourraient donner lieu à des interprétations différentes.

Ainsi les « figures en rosettes » (Pl. IX, fig. 1, 2, 3, 4) pourraient être interprétées comme des « précipitations marginales extravacuolaires » (*Randfällungen*) de colorant, si bien décrites et interprétées par von MÖLLENDORFF (20). C'est pour parer à cette objection que nous avons tenu à toujours corroborer les résultats des colorations vitales par ceux de colorations après fixation et d'imprégnations métalliques. Il est difficile d'admettre que le même artefact se reproduise à la suite de techniques aussi différentes.

La confrontation de cellules dépourvues d'enclaves phagocytaires avec celles où la *totalité du vacuome* participe à la réaction vacuolaire est également très significative.

La réaction vacuolaire.

De tout ce qui précède, il ressort que l'intervention du vacuome dans la formation des gastrioles est un processus très répandu. Nous ne connaissons pas d'exemples où l'existence d'un processus entièrement différent ait été démontrée.

En tenant compte des différents aspects de ce processus dans les divers cas étudiés, voici comment on peut en schématiser les étapes successives :

Un corpuscule étranger (ou un amas de corpuscules, chez les Infusoires) est ingéré, baignant dans une goutte d'eau : ou bien : un corpuscule intimement accolé à la membrane de la cellule est englobé par celle-ci, et une mince auréole aqueuse n'apparaît que plus tard, séparant la particule du cytoplasme. Ainsi se trouve constitué un système que nous désignons sous le nom de « progastriole ».

La progastriole possède un certain nombre de caractères constants. Ainsi elle ne se colore pas du tout (Métazoaire) ou peu (*Vakuolenschleim* des Paramécies) par les colorants vitaux du vacuome. Sa réaction est acide (Infusoires ; expériences des grains de tournesol dans les choanocytes). La progastriole peut atteindre un volume considérable (Infusoires, cellules intestinales des Pla-

naires); elle peut, au contraire, ne constituer qu'une mince enveloppe liquide autour du grain (amibocytes), ou être même totalement invisible (choanocytes; monocytes de vertébrés); le grain paraît alors logé à même le cytoplasme (SMITH, 21; SMITH, WILLIS et LEWIS, 22; LEWIS et LEWIS, 25).

Quelle qu'elle soit, la progastriole doit ensuite, pour devenir une gastriole, recevoir la substance des éléments endogènes du vacuome. Les éléments du vacuome y pénètrent à l'état figuré (Infusoires), y diffusent (Sipunculidés), ou fusionnent avec elle (Éponges, Planaires). Ces différents modes semblent déterminés, chacun, par la taille relative des progastrioles et des vacuoles endogènes et par la consistance de ces dernières. La gastriole se distingue donc de la progastriole par la présence à son intérieur des substances constitutives du vacuome. La colorabilité par les colorants vitaux basiques en est une conséquence. Sa réaction devient alcaline.

Dans les cellules endodermiques des Scyphistomes, la réaction vacuolaire prend un aspect quelque peu différent : les éléments du vacuome s'accolent aux progastrioles, leur cèdent une partie de leur substance et s'en séparent ensuite (TCHÉU-TAÏ-CHUIN, 30).

Nous avons dit (30) que, dans les choanocytes, quand le vacuome était utilisé à la constitution d'une gastriole, l'équilibre était rétabli à l'intérieur de la cellule par la formation de vacuoles endogènes nouvelles. Ce processus s'accroît dans les amibocytes granuleux (pauvres en vacuome) des Sipunculidés, où il semble y avoir enrichissement réflexe en vacuome à la suite de l'ingestion d'une particule étrangère. C'est ce dernier processus qui devient le mode normal chez certaines Amibes (observations non publiées) : il y a dans ce cas néoformation de vacuome au contact même des progastrioles. On peut, enfin, imaginer un cas limite où les substances constitutives du vacuome, préexistant à l'état diffus dans le cytoplasme, se déverseraient directement dans la progastriole au lieu de se condenser d'abord en vacuoles à l'extérieur de cette dernière. Ce cas est peut-être effectivement réalisé dans les Hypermastigines où, à en croire DUBOSCQ et GRASSÉ (31), les seuls éléments colorables sur le vivant seraient les gastrioles. Ces organismes seraient alors normalement dépourvus de vacuome figuré (*mais non point des substances constitutives du vacuome*). Les gastrioles, une fois constituées, peuvent soit se fragmenter (Infusoires), soit fusionner (Choanoflagellés, amibocytes); il semble y avoir une taille optima

(différente pour chaque espèce cellulaire) vers laquelle tendent les gastrioles (¹).

Nous parlerons plus loin (p. 233) d'un autre aspect de la réaction vacuolaire.

Electivité de la réaction vacuolaire.

Dans le cas des Infusoires, il semblait que l'affinité des éléments du vacuome pour les progastrioles n'était pas élective, c'est-à-dire que l'attraction des vacuoles endogènes ne paraissait pas être influencée par la nature des ingesta. Cependant, KEDROWSKI (32) signale des différences d'amplitude dans la réaction vacuolaire chez *Spirostomum*, différences qu'il attribue à la richesse plus ou moins grande des progastrioles en protéines. L'électivité de la réaction vacuolaire apparaît avec beaucoup de netteté dans les cellules des Métazoaires : dans le cas des choanocytes, elle est intense en présence d'une hématie, faible ou nulle (suivant l'espèce d'Éponge) en présence d'un grain de carmin ou de Soudan III ; de même dans les amibocytes des Sipunculidés. SAINT-HILAIRE (04) avait déjà constaté que le vacuome ne fusionnait pas toujours avec les progastrioles.

Valeur physiologique de la réaction vacuolaire.

Quelle est la signification, au point de vue physiologique, du déversement des substances constitutives du vacuome dans les progastrioles ?

ST-HILAIRE, NIERENSTEIN et nous-même sommes d'accord pour constater que la digestion des corps phagocytés débute après l'intervention de ce que nous savons maintenant être le vacuome. Il existe pourtant des cas où l'ingestion partielle d'un organisme vivant suffit pour y causer des altérations profondes (LEVADITI et MUTTERMILCH, 10), mais ces altérations sont vraisemblablement de nature autolytique et ne nécessitent pas une intervention des ferments propres du phagocyte. ST-HILAIRE observe qu'en l'absence de réaction vacuolaire, les ingesta peuvent subir une dissolution

(¹) Ce processus de fragmentation des gastrioles est particulièrement poussé chez les Fœttingériidés, comme *Spirophrya*, *Polyspira*, etc. (CHATTON, LWOFF et PARAT, 26).

très lente. On a l'impression qu'ils sont alors consommés au fur et à mesure des besoins de la cellule ; on pourrait comparer ce phénomène à la résorption des enclaves graisseuses propres de la cellule. C'est dans ce même sens (digestion autolytique) que l'on pourrait interpréter certaines des observations de M. LEWIS (23) et de W. et M. LEWIS (25).

Un certain désaccord règne donc sur la question de la coïncidence entre la colorabilité des ingesta par les colorants vitaux et leur digestion : ainsi, les LEWIS (*loc. cit.*) admettent que des particules ingérées peuvent subir une digestion rapide sans jamais s'entourer de vacuoles colorables. Mis à part les cas de digestion autolytique possible des organismes ingérés, nous croyons que cette observation peut s'expliquer de la façon suivante : d'abord les substances constitutives du vacuome se trouvent diluées dans la gastriole ; ensuite le pH de cette dernière est plus élevé que celui du vacuome ; ces deux facteurs agissant conjointement, il en résulte que la gastriole possède un pouvoir de concentration, vis-à-vis des colorants vitaux, moins élevé que les éléments du vacuome qui ont contribué à sa constitution (confr. p. 182). Il est donc toujours possible de colorer le vacuome sans colorer les gastrioles. Cette explication suffit, semble-t-il, pour rendre compte des résultats discordants des auteurs. Ce changement de réaction, consécutif à la transformation des progastrioles en gastrioles, a été décrit par NIERENSTEIN chez les Infusoires ; chez une Paracémie, l'écart de pH est très grand. Par contre, chez les Métazoaires, nous avons observé une élévation de 0,4-0,6 unités pH au plus. Dans le cas des choanocytes d'Éponges calcaires, nous avons suivi le virage des grains de tournesol en fonction de l'envacuement (VOLKONSKY, 30). Les grains de tournesol bleus dans l'eau de mer, virent au rose vif, une fois ingérés par les choanocytes (Pl. VI, fig. 14). La réaction de la progastriole est donc acide ; nous ne croyons pas que cette acidité soit le résultat d'une sécrétion particulière : un simple phénomène physique (p. ex., l'établissement d'un équilibre de Donnan) suffirait pour provoquer cette acidification. La réaction acide persiste aux premiers temps de la confluence du vacuome (Pl. VI, fig. 13). Ensuite, le tournesol commence à virer (de la périphérie vers le centre) (fig. 12). Dans une gastriole définitivement constituée, le grain reprend sa teinte bleue (fig. 11). Nous avons dit (*loc. cit.*) que ce changement de réaction était accompagné d'une modification constitutionnelle des substances vacuolaires, comparable à la transformation de corps promucoïdes en mucus (double coloration de GUIEYSSE-PÉLISSIER). Ce caractère permettrait d'établir un rapprochement entre la « sécrétion intracellulaire » des choanocytes et la sécrétion extracellulaire des glandes digestives des animaux supérieurs.

Ce n'est qu'après que les auteurs auront tenu compte de ces causes d'erreur possibles, qu'on pourra considérer comme démontrée la possibilité d'une digestion intracellulaire (*par les ferments du phagocyte*) en absence d'une réaction vacuolaire et sans qu'il y ait formation d'une gastriole.

Dans tous les cas étudiés, nous avons toujours observé que la

digestion des particules phagocytées était liée à une participation directe des substances constitutives du vacuome. Le vacuome apparaît ici clairement comme le vecteur de ferments digestifs. Quant au déterminisme immédiat de l'accolement et de la fusion du vacuome et des progastrioles, il laisse le champ libre à toutes les hypothèses invoquées jusqu'ici pour expliquer l'accolement des corpuscules étrangers aux phagocytes eux-mêmes et leur pénétration dans ces derniers : hypothèse électrique, hypothèse de mouillabilité, etc. (voir plus loin, p. 228) ⁽¹⁾.

Réaction chondriosomique.

Chez les Infusoires, ni nous-même (VOLKONSKY, 29), ni HALL et DUNIHUE (31) ne trouvons de relations définies entre les gastrioles et le chondriome. Par contre, chez les Spongiaires, nous constatons une attraction et une « pachinèse » (PARAT, 29) du chondriome pendant la phase assimilatoire de la digestion intracellulaire. De ce phénomène que nous qualifions de « réaction chondriosomique », nous concluons en faveur d'une intervention probable du chondriome dans les processus anaboliques. TCHÉU-TAI-CHUIN (30) décrit une « précipitation » des mitochondries à la surface externe des gastrioles mûres dans les cellules phagocytaires des Scyphistomes. Certaines figures de CAUSEY (25) font songer à l'existence possible de phénomènes analogues chez *Amœba gingivalis*. En revanche, dans les amibocytes des Sipunculidés, nous ne constatons encore aucune relation constante entre le chondriome et les gastrioles. Quand, parfois, les chondriocones longent les parois gastriolaires, ceci n'est, semble-t-il, qu'un phénomène fortuit et n'indique

(1) Puisque les caractères capillaires des particules phagocytées interviennent vraisemblablement dans le déterminisme de la réaction vacuolaire, et que celle-ci est elle-même une condition importante de la digestion intracellulaire, il faudrait s'attendre à une certaine relation entre les caractères capillaires des particules et leur digestibilité. On sait, en effet, que l'état d'immunité qui conduit, entre autres, à une digestion des bactéries phagocytées, a sa répercussion sur les caractères de mouillabilité des corps bactériens (voir p. 168), en particulier dans le cas des bactéries acido-résistantes. De plus, CHAMBERS et BORQUIST (28) montrent que les bacilles de Koch phagocytés ne se colorent pas par le rouge neutre, contrairement à ce qui a lieu dans le cas de *B. welchi* ou du colibacille.

Nous n'entrerons pas plus avant dans l'exposé de cette hypothèse qui constitue un problème en soi et nécessite une étude spéciale.

pas un accollement véritable des chondriosomes aux parois des gastrioles. Pourtant, les gastrioles ont tendance, nous l'avons dit, à se loger dans la région du centre cellulaire, en s'enfonçant dans l'amas chondriosomique.

C'est là un lieu de prédilection pour l'évolution ultérieure des gastrioles.

Somme toute, il existe là aussi entre le chondriome et les gastrioles une relation de contact fréquente, sinon constante, et le chondriome joue peut-être un rôle direct dans l'assimilation ; mais il est impossible d'en donner une démonstration certaine par voie morphologique. Au cours de la digestion de globules de lait, dans les choanocytes, nous avons constaté une accumulation de lipoïdes au niveau du chondriome périgastriolaire. Ceci n'est plus le cas dans les amibocytes de Sipunculidés : nous trouvons ici des transsudations lipoïdiques à la surface externe des gastrioles à lait, mais ces transsudations sont indépendantes du chondriome.

La question de l'intervention nucléaire.

La participation directe du noyau aux phénomènes de sécrétion et d'élaboration, décrite dans un grand nombre de cas, fut reconnue plus tard comme une théorie reposant le plus souvent sur des préparations cytologiques défectueuses.

Il n'en reste pas moins vrai que, dans un nombre de cas limité, l'émission de substances par le noyau est manifeste, ainsi que l'incorporation de ces substances dans les élaborations cellulaires.

Dans la digestion intracellulaire, la participation directe du noyau a également été décrite. Nous ne signalerons que le cas le plus intéressant : d'après H. HOFENEDER (30), le noyau mobile du Péridinien *Ceratium hirundinella* émet de fins prolongements qui entrent en contact avec les gastrioles.

Dans les amibocytes des Sipunculidés, les gastrioles ont tendance à se loger au contact du noyau. C'est, d'ailleurs, un fait connu, que chez les leucocytes, en général, les corps phagocytés se tassent contre la membrane nucléaire (voir JOLLY, 23, *bibliogr.*). Pourtant nous n'avons jamais pu constater une accumulation intranucléaire de substances assimilées au cours de la deuxième phase de la digestion intracellulaire.

Chez les Infusoires, chez un grand nombre d'Amibes, il n'existe aucun rapport topographique constant entre les gastrioles et le noyau.

En résumé, si l'hypothèse d'une participation directe du noyau aux phénomènes de digestion intracellulaire ne peut être exclue *a priori*, cette participation ne peut être démontrée morphologiquement que dans un nombre de cas très restreint.

Digestion intra- et extracellulaire.

Nous exposerons ultérieurement les traits communs qui existent entre la phagocytose et l'accumulation des colorants acides. Nous essaierons ici de mettre en évidence le parallélisme qui existe entre la digestion intracellulaire et la digestion extracellulaire.

On croyait autrefois que la digestion intracellulaire se poursuivait sans l'intervention de diastases, comme conséquence d'une « réaction vitale » du cytoplasme (KRUKENBERG, 86). Les travaux de MESSIL (01) et de MOUTON (02) démontrent bien l'existence de diastases dans les organismes à nutrition phagocytaire, mais on croyait que ces diastases ne constituaient pas une sécrétion figurée (GURWITCH, 04). Les travaux de C. ST-HILAIRE (04) et de NIERENSTEIN (05) parlent en faveur de l'idée inverse. L'analogie entre la digestion intra- et extracellulaire peut être poussée beaucoup plus loin encore.

Le tube digestif d'un Métazoaire, schématisé au maximum, peut être envisagé comme constitué de deux segments successifs : un premier — sécrétoire (fig. 3a), un deuxième — absorbant (fig. 3b). Le premier segment est caractérisé par la sécrétion à son niveau de ferments digestifs d'origine endovacuolaire, par la muqueuse du tube et de ses diverticules (glandes salivaires, pancréas). A cette phase correspond la phase de pénétration des granula à travers la paroi progastriolaire (2a, b) ou la fusion de la progastriole avec les éléments du vacuome (1a, b). A ce stade, la réaction de la gastriole est *relativement* acide. On pourrait appeler ce stade, « l'étape stomacale » de la digestion intracellulaire (1).

(1) En vertu de la continuité que la théorie capillaire établit entre l'ingestion de particules par les phagocytes et l'étalement de ces derniers sur des

Le deuxième segment de tube (3*b*) est caractérisé par la résorption à son niveau des produits de la digestion. Les ferments digestifs sont contenus dans la lumière du tube, mélangés aux ingesta. A ce stade correspond, dans la digestion intracellulaire, le stade où la gastriole, définitivement constituée, laisse échapper les produits de

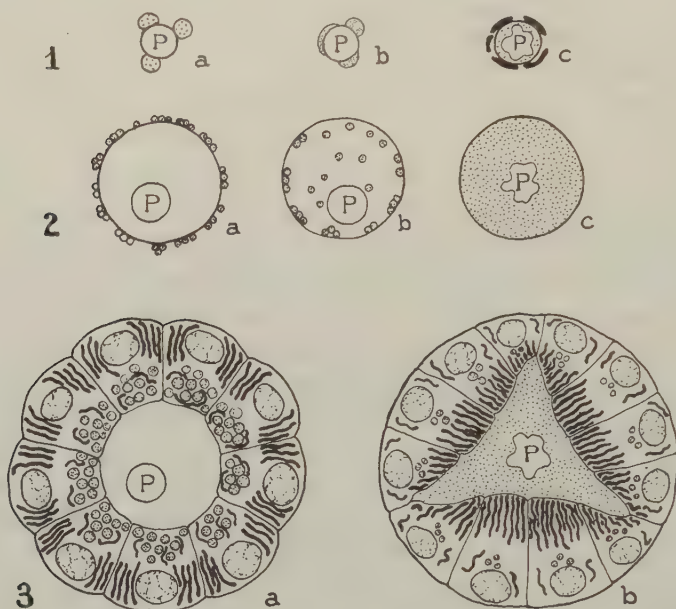


Fig. II. — Figures schématiques des différentes étapes de la digestion intra- et extracellulaire : 1, dans un choanocyte d'Eponge ; 2, dans une Paramecie. *a*, étape sécrétoire ; *b*, stade intermédiaire ; *c*, étape absorbante ; 3, dans un Métazoaire. *a*, étape sécrétoire ; *b*, étape absorbante.

surfaces étrangères (voir plus haut, p. 165), on pourrait envisager la portion d'une surface recouverte par un phagocyte comme un système comparable à une progastric. On pourrait s'attendre alors, dans le cas d'un substratum favorable à la réaction vacuolaire, à voir les substances constitutives du vacuome se déverser à l'extérieur par la surface adhérente de la cellule. Cette vue théorique paraît conforme à la réalité : A. FISCHER (30) observe que des fragments de muscles, en voie de digestion par des cellules sarcomateuses en culture, se colorent par le rouge neutre au niveau des surfaces d'adhérence des cellules (cité d'après KEDROWSKI, 32) ; au point de contact entre les cellules et les corps alimentaires, il se constituerait donc un milieu comparable au milieu gastriolaire. Ce schéma permettrait d'établir une continuité entre la digestion intracellulaire et la digestion extracellulaire des cellules phagocytaires.

la digestion (1c, 2c). A ce moment, sa réaction est *relativement* alcaline. On pourrait appeler ce stade « l'étape intestinale » de la digestion intracellulaire. L'analogie ne s'arrête pas là :

Les cellules intestinales sont caractérisées chacune par la présence d'un paquet serré de chondriome apical. Il en résulte que la cavité de l'intestin est bordée extérieurement par une brosse serrée de chondriosomes. Ce système peut être comparé à celui qui se constitue autour d'une gastriole à la suite de la « réaction chondriosomique » (par exemple, dans un choanocyte) ou quand la gastriole s'enfonce dans l'amas chondriosomique (par exemple, dans les amibocytes des Sipunculidés).

Dans le cas des choanocytes, nous avons le droit de conclure à une participation immédiate du chondriome dans les processus d'assimilation. Le chondriome apical des cellules intestinales joue-t-il un rôle analogue? C'est là, en effet, la théorie de CHAMPY (11); mais on possède à l'heure actuelle un nombre insuffisant de faits pour que cette question puisse être considérée comme résolue.

Conclusions.

Les particules, ingérées par les amibocytes des Sipunculidés, se trouvent d'abord entourées de minces enveloppes aqueuses, et constituent ainsi des progastrioles.

Les éléments du vacuome se déversent dans les progastrioles à globules de lait, à hématies de mammifères, à grains d'amidon de riz ou à cellules de Pleurococcus, mais pas dans les progastrioles à carmin ou à Soudan III (électivité de la réaction vacuolaire). Les gastrioles ainsi constituées sont plus alcalines que les progastrioles. Les vacuoles faiblement colorables sur le vivant, qui sont présentes dans certains amibocytes, ne participent pas à la « réaction vacuolaire ».

La réaction vacuolaire semble constituer le processus normal de la transformation des progastrioles en gastrioles, ceci aussi bien chez les Protozoaires que dans les cellules phagocytaires. La digestion des particules ingérées paraît toujours liée à la formation de gastrioles, donc — à l'intervention des substances constitutives du vacuome.

Les gastrioles, contenues dans les amibocytes des Sipunculidés,

ne présentent pas de rapports constants avec le chondriome. Si le chondriome participe directement aux phénomènes anaboliques de la nutrition phagocytaire, cette participation (« réaction chondriosomique ») ne peut être mise en évidence par voie morphologique que dans des cas particuliers (choanocytes d'Éponges calcaires).

Les principales étapes de la digestion intracellulaire peuvent être comparées à celles de la digestion extracellulaire (stade de sécrétion, stade d'absorption).

III. — ACCUMULATION DES COLORANTS ACIDES

Introduction.

Colloïdopexie et chromopexie.

Suivant la définition de BRATIANU et LLOMBART (29), de BRATIANU et GUERRIERO (30), la colloïdopexie consiste en une floculation et une fixation intracytoplasmiques des colloïdes électronégatifs par le système réticulo-endothélial.

BRATIANU et GUERRIERO excluent de la colloïdopexie :

- 1) La coloration diffuse des cellules altérées, celle des résidus phagocytaires ou des restes nécrosés (*erreur postvitale*).
- 2) Les colorations résultant du partage du colorant entre deux solvants (*erreur « chimique colorante »*).
- 3) L'adsorption du colorant sur des structures cellulaires préexistantes (*erreur « physique colorante »*).

La colloïdopexie est donc avant tout une fonction physiologique des cellules vivantes. Elle s'oppose : d'une part, à la coloration par dissolution ; d'autre part, à la teinture d'organites et d'enclaves cellulaires préexistantes ; enfin, elle s'oppose à la floculation des colorants, telle qu'elle se présente dans les cellules rénales, étant donné qu'ici la floculation n'est pas suivie d'une « colloïdostabilisation ». La colloïdopexie (chez les Vertébrés) devient ainsi l'apanage exclusif du système réticulo-endothélial.

Il ressort de cette définition que le terme de « colloïdopexie » (contrairement à l'opinion de ses créateurs) n'est pas synonyme de « Farbstoffspeicherung », terme employé dans un sens beaucoup

plus large. Von MÖLLENDORFF (25), CHLOPIN et CHLOPIN (25, 29), CHLOPIN (27, 30), USCHIN, DRACH (30) montrent que la floculation intracytoplasmique des colorants acides et la coloration de structures préexistantes sont dans certains cas deux phénomènes étroitement apparentés. D'après sa définition, la colloïdopexie correspond uniquement à une accumulation de colorants acides du « type néphrocytaire » de Chlopin — apanage du système réticulo-endothélial, à l'exclusion des types « mitochondrial » et « golgien » du même auteur. Or, W. et M. von MÖLLENDORFF (26) avaient déjà fait remarquer qu'il n'y avait pas lieu d'opposer ces différents types de localisation des colorants. Si la notion de « colloïdopexie », dans les limites que lui assignent BRATIANU et GUERRIERO, peut être d'une grande utilité pour les anatomo-pathologistes, au point de vue cyto-logique et cyto-physiologique il est préférable d'envisager l'accumulation des colorants acides, sous ses différents aspects, comme un seul phénomène. Pour désigner ce phénomène moins spécifique, force nous est donc d'introduire un terme nouveau, afin d'éviter l'emploi du mot « colloïdopexie » dans un sens différent de celui qui lui a été primitivement attribué.

Nous créons le terme de *chromopexie* pour désigner l'accumulation de colorants acides dans les cellules vivantes et normales (sans préjuger d'ailleurs de la nature colloïdale de ces colorants). La chromopexie comprend : l'accumulation des colorants acides par le système réticulo-endothélial, par les cellules excrétrices (cellules rénales, néphrocytes branchiaux), par les cellules absorbantes (cas des cellules intestinales des rats nouveau-nés de MÖLLENDORFF, 25) et par les Protozoaires à nutrition diffusive (Opalines), même quand c'est le vacuome (ou « appareil de ségrégation ») qui en devient le siège (1). Il faut en exclure les phénomènes de teinture vitale des cellules par les colorants acides (KÜSTER, KELLER, GICKLHORN, etc.).

La « chromopexie » est donc partiellement superposable à la « colloïdopexie » ; *grosso modo*, elle est synonyme du terme allemand de « Farbstoffspeicherung », terme à limites assez peu précises.

L'unité et les limites de la chromopexie apparaîtront plus clairement à la lecture des pages suivantes.

(1) Ce cas correspond pour von MÖLLENDORFF à la formation de « Mischgranula » de colorant et de micelles protéiques.

Données actuelles sur le mécanisme de la chromopexie.

Un travail de von MÖLLENDORFF (16) contient l'esquisse de cette idée intéressante : pour qu'un colorant acide soit, pour ainsi dire, capté par une cellule — jusqu'à être amenée à flocculer à son intérieur, il faut qu'il puisse y pénétrer, mais ne puisse en sortir. Il faudrait pour cela qu'il subisse une diminution de dispersité à l'intérieur de la cellule ; ceci expliquerait aussi pourquoi, dans certains cas, les colorants d'une dispersité moyenne sont seuls accumulés : les colorants trop dispersés entrent et sortent librement ; les colorants trop peu dispersés ne peuvent ni entrer ni sortir. Seuls les colorants de dispersité moyenne peuvent entrer, mais ne peuvent sortir — ils sont donc accumulés.

D'un autre côté, les colorants qui flocculeraient le plus facilement seraient les colorants insolubles dans les lipoides. Cette explication, purement hypothétique en 1916, a trouvé depuis des recoupements intéressants.

Pour pouvoir adopter le postulat de changement de dispersité à l'intérieur des cellules, il faudrait posséder des données sur l'état physique des colorants acides avant et après leur passage à travers la membrane cellulaire ; quelles sont ces données à l'heure actuelle ?

Facteurs extrinsèques de la chromopexie.

HERTZ (22), de l'école de HÖBER, montre qu'en ce qui regarde les Opalines, on peut diviser les colorants acides en deux groupes : 1° Les colorants insolubles dans le mélange de NIERENSTEIN, dont l'accumulation est inhibée par la présence de narcotiques ; 2° Les colorants solubles dans ce mélange et dont l'action n'est pas modifiée par la narcose. La pénétration dans la cellule résulterait de mécanismes différents : dans le deuxième cas, elle aurait lieu par la voie lipoidique (« perméabilité physique » de HÖBER) ; dans le premier, par voie d'« absorption active » (« perméabilité physiologique » ; on pourrait dire aussi bien : « perméabilité paradoxale »).

Les colorants lipo-solubles ne nécessitent pas de substances auxiliaires pour être accumulés ; par contre les colorants « activement absorbés » ne le sont qu'en présence d'albumoses.

DE HAAN (23) considère que les colorants acides ne sont accumulés par les cellules en culture qu'à condition d'être absorbés sur les micelles colloïdales ou des particules ultramicroscopiques (notion d'ultraphagocytose). DE HAAN et BAKKER (23) se servent de ces données et d'autres, pour établir une théorie nouvelle de l'excrétion rénale : la chromopexie dans le rein serait le résultat de la résorption de colorants absorbés sur les colloïdes ; les séro-colloïdes

filtreraient donc à travers l'épithélium glomérulaire et seraient résorbés au niveau des tubes contournés.

Des travaux de DE HAAN (*loc. cit.*) et de ses collaborateurs (DE HAAN et HOEKSTRA, 27; DE HAAN, KOLK et GERRITSMAN, 28) se dégage une conception nouvelle : celle d'ultraphagocytose, où la chromopexie est envisagée comme un phénomène phagocytaire transporté à une échelle ultramicroscopique.

Dans son important travail sur *Opalina ranarum*, KEDROWSKI (31a) montre entr'autres que les colorants acides lipo-solubles, en l'absence d'albumoses, ne donnent lieu qu'à des colorations diffuses ; au contraire, tous les colorants (solubles ou non dans le mélange de NIERENSTEIN), aussi bien que les métaux colloïdaux, s'accumulent en présence de protéines ou d'albumoses au niveau de l'« appareil de ségrégation ».

Dans le premier cas, il s'agit d'une teinture pure et simple, dans le second d'une chromopexie vraie. KEDROWSKI conclut que les colorants acides ne sont accumulés au niveau de l'appareil de ségrégation qu'à condition d'être préalablement absorbés par des colloïdes du milieu externe et attribuée à ces colloïdes le rôle de « substances vectrices » vis-à-vis des colorants.

En résumé, aussi bien dans les histiocytes que dans les Protozoaires intestinaux (et mis à part le cas de teinture par les colorants lipo-solubles), la chromopexie apparaît comme un phénomène satellite de l'absorption de substances « vectrices » colloïdales et les colorants ne sont accumulés qu'à l'état adsorbé (1).

Etat physique des colorants à l'intérieur des cellules.

En établissant que les colorants acides s'accumulent dans les cellules au sein de vacuoles néoformées, HERZFELD (17) et von MÖLLENDORFF (18a, 20a, bibliogr.) ne saisissent qu'un seul aspect du phénomène. En effet, von MÖLLENDORFF (25) trouve lui-même que, dans certains cas, les colorants acides se fixent sur des éléments préexistants (par exemple, des enclaves protéiques). P. DRACH (30) aperçoit dans les néphrocytes branchiaux des Décapodes des grains colorables par les colorants vitaux basiques. Les colorants acides injectés

(1) Le cas des animaux aquatiques capables d'accumuler des colorants acides à partir du milieu ambiant nécessite une mention spéciale. Tant qu'il s'agit d'Actinies (MESNIL, 01) ou d'Eponges (BIDDER, 92-93; LOISEL, 98; FAURÉ-FRÉMIET, 31) les faits ne sont pas en désaccord manifeste avec l'hypothèse des colloïdes vecteurs ; par contre dans le cas des larves de Batraciens un autre facteur doit être mis en cause. Ainsi MC CLURE (18) démontre par des expériences d'immersion partielle que le trypanobleu pénètre dans les têtards de grenouille non point par voie intestinale, mais à travers la peau et à partir de l'eau environnante. Le colorant apparaît en premier lieu au niveau des macrophages sous-cutanés. Mais la peau de grenouille, on le sait, est un prototype de membranes à « perméabilité irréciproque » (WERTHEIMER, 23-24; GICKLHORN). Il est très probable que, dans ce cas, les colorants sont pompés avec l'eau par voie électrophorétique (KELLER). La chromopexie des macrophages sous-cutanés se fait, elle, à partir du plasma, donc : en présence de colloïdes vecteurs.

tés dans la circulation ne flocculent dans le cytoplasme des néphrocytes qu'après avoir « saturé » les grains préexistants. KEDROWSKI observe que les colorants vitaux acides se concentrent chez les Opalines au niveau de l'appareil de ségrégation (*alias* : vacuome). CHLOPIN (30, *bibliogr.*) tente d'établir une symétrie parfaite entre le comportement des colorants vitaux acides et basiques. Sous son dernier aspect, cette théorie peut, semble-t-il, être résumée de la façon suivante : les colorants des deux catégories se fixeraient sur des enclaves cellulaires constituées par des colloïdes de signe électrique opposé à celui des colorants ; en l'absence d'enclaves préexistantes, les colorants (acides ou basiques) provoqueraient la séparation des colloïdes nécessaires aux dépens du cytoplasme (notion de « crinome »). En montrant que les colorants basiques en excès provoquaient la néoformation de granula basophiles (après fixation), CHLOPIN et CHLOPIN (25) restent en accord avec la théorie « électrochimique » de von MÖLLENDORFF. La seule question, sur laquelle ils sont en désaccord avec ce dernier, est celle du mode d'accumulation des colorants acides au niveau d'enclaves cellulaires. Ici CHLOPIN et CHLOPIN semblent confondre la chromopexie avec un phénomène de teinture. Mais alors, comment ces auteurs expliqueraient-ils, sans renoncer à la conception électrochimique, que les grains des néphrocytes ou l'appareil de ségrégation des Opalines se colorent aussi bien par les colorants basiques que par les colorants acides ?

En somme, les colorants acides se comportent, suivant les cas, de deux façons différentes : tantôt ils se fixent sur des corps figurés préexistants, tantôt ils déterminent la néoformation de vacuoles colorées, sans que l'on puisse affirmer ni dans un cas ni dans l'autre que la localisation du colorant est déterminée par l'existence aux mêmes points d'un colloïde de signe électrique opposé.

Occupons-nous d'abord du deuxième cas (néoformation de vacuoles) qui seul, d'après la définition de BRATIANU et GUERRIERO, rentre dans le cadre de la colloïdopexie.

Quel est l'état physique des colorants acides contenus dans les vacuoles néoformées ? MÖLLENDORFF montre qu'ils flocculent avec les colorants basiques ; ils sont donc susceptibles de réactions (*reaktionsfähig*) ; ils seraient donc à l'état libre, non adsorbé. SCHULEMANN (14, 17) et OSTWALD (19) montrent que la congorubine et l'or colloïdal accumulés dans des vacuoles néoformées sont sensibles à l'action des électrolytes, comme ils le seraient en solution aqueuse en l'absence de colloïdes protecteurs.

Il est donc très probable que les colorants acides sont à l'état libre et portent, comme *in vitro*, une charge électrique inverse de celle des colorants basiques. Au contraire, dans les cas où les colorants acides s'accumulent au niveau d'enclaves préformées, colorables par les colorants basiques, le postulat « électrochimique »

exige qu'ils portent une charge de même signe que ces derniers, ce qui serait réalisé s'ils étaient adsorbés par des colloïdes de signe inverse à leur charge primitive.

On peut donc se représenter que, dans les cellules en train d'accumuler des substances exogènes au niveau de leur appareil de ségrégation (Opalines, néphrocytes, cellules intestinales de rats nouveau-nés), les colorants acides sont entraînés à l'état adsorbé jusqu'au niveau de l'appareil de ségrégation.

Au contraire, dans le cas de colloïdopexie vraie (Syst. R. E.), les colorants seraient dissociés des colloïdes vecteurs et floculeraient à l'état libre. On peut ainsi se figurer le système réticulo-endothélial comme parcouru par un flux continu de séro-colloïdes, abandonnant au passage les colorants acides dont ils sont chargés. Le système réticulo-endothélial apparaîtrait dès lors à la fois comme un lieu de sécrétion et comme un lieu de résorption de certains séro-colloïdes au moins; ce qui, somme toute, n'est pas en contradiction avec l'idée qu'on s'en fait actuellement.

Hypothèse du rôle « embatique » des substances vectrices.

Aucune donnée ne s'oppose jusqu'ici à l'hypothèse que, dans le cas de la chromopexie vraie, les colorants acides ne pénètrent dans les cellules qu'une fois adsorbés sur des substances protéiques et qu'ils s'accumulent ensuite à l'état libre dans des vacuoles néoformées (ou à l'état combiné au niveau de vacuoles préexistantes).

Il y aurait alors dans la cellule une dissociation entre le colorant et l'adsorbens et c'est cette dissociation qui serait à l'origine du changement de dispersité, responsable, suivant l'idée de von MÖLLEN-DORFF, de la chromopexie. Mais nous nous heurtons alors à cette condition, à première vue paradoxale — à savoir — que les colorants adsorbés sur des protéines possèderaient une diffusibilité supérieure aux mêmes colorants à l'état libre. Cette difficulté n'est en réalité qu'apparente.

En effet, BENNHOLD (27) montre que la présence de sérum (et, à un degré moindre, de lysalbuminate et de protalbuminate de Na) est susceptible d'augmenter la filtrabilité de certains colorants acides et leur pouvoir de pénétration dans un gel de gélatine. Cette propriété du sérum, BENNHOLD l'appelle « pouvoir embatique ». Le

jaune de naphthol en solution aqueuse pénètre en 4 jours dans de la gélatine à 5 o/o à une profondeur de 36 millimètres. Le Congo brillant R ne pénètre pratiquement pas. En présence de sérum, les deux colorants pénètrent jusqu'au même niveau (8 millimètres en 4 jours), qui est, de plus, celui de pénétration des colloïdes du sérum. Nous dirons que l'effet embatique est *positif* dans le cas du Congo brillant, qu'il est *négalif* dans le cas du jaune de naphthol.

On voit que, dans le cas d'un effet embatique positif, se trouvent réalisées des conditions justifiant l'application du schéma précédent : à l'état adsorbé, les colorants possèdent alors un pouvoir de pénétration (pour ne pas dire : une dispersité) et une filtrabilité plus grandes qu'à l'état libre.

Nous touchons ainsi à l'hypothèse qui a servi de point de départ à une partie de ce travail :

1. *La chromopexie n'a lieu qu'en présence de substances possédant un pouvoir embatique.*
2. *Seuls sont accumulés les colorants présentant un effet embatique positif.*

Etude de la chromopexie des amibocytes *in vitro*.

Nous avons étudié l'accumulation intracellulaire des colorants suivants ⁽¹⁾ :

Jaune de naphthol S (Microcolor).	
Azorubine	»
Bordeaux R	»
Rouge rubis A	»
Azoviolet	»
Benzoazurine	»
Bleu azoïque	»
Coralline	»
Phloxine	»
Rhodamine S	»
Carmin azoïque	»

(¹) Certains des colorants qui figurent sur cette liste se sont trouvés impropres aux expériences de chromopexie dans les conditions données : la coralline, la fuchsine, le bleu Poirrier sont fortement décolorés par l'eau de mer ; le jaune de naphthol donne des colorations trop pâles. Nous les mentionnons cependant sur la liste générale, étant donné qu'ils nous ont servi, à côté des autres, dans une série d'expériences préliminaires.

Rouge thiazine	(Microcolor)
Bleu de méthyle	»
Fuchsine S	»
Orange I	»
Lithinocarmin de Orth	(Grübler).
Trypanbleu	»
Vitalneurot	»
Cyanoquine	»
Bleu Poirrier	»
Bleu patent	»

celle du « bleu de Prusse soluble », celle du saccharate de fer, enfin (à la limite entre la chromopexie et la phagocytose vraie) celle de l'encre de Chine.

Comme point de départ, nous ont servi des solutions mères de ces substances à 0,5 o/o dans l'eau distillée ; pour l'encre de Chine — la solution commerciale.

Sur des leucocytes, ayant phagocyté ou accumulé des colorants acides, on peut pratiquer ensuite une coloration vitale avec des colorants basiques.

Dans le cas de la colloïdopexie, il faut, naturellement, que le colorant basique s'oppose par sa couleur au colorant acide. Dans ce but, nous avons utilisé le rouge neutre après les colorants acides bleus, le bleu de crésyle brillant ou le bleu de toluylène après les rouges, le brun Bismarck après les violets.

Dans les expériences de colloïdopexie du saccharate de fer, le métal accumulé a été mis en évidence par la réaction du bleu de Prusse après fixation dans le liquide de Duboscq-Brasil.

Les colorants acides ont été utilisés à des concentrations de 1 p. 12.000 à 1 p. 20.000. Le saccharate de fer à 1 p. 20.000.

Des lamelles sont prélevées à intervalles réguliers et examinées directement — sans coloration, après coloration vitale, enfin après fixation et coloration.

Expériences préliminaires.

Avant d'entreprendre l'étude des conditions d'accumulation des colorants à l'intérieur des leucocytes, nous avons étudié quelques propriétés de nos colorants, notamment leur charge et leur dispersité.

Indice Gélatine.

Nous avons mesuré la dispersité des colorants par une méthode grossière qui consiste à évaluer la largeur des bandes de diffusion dans un gel de gélatine. Après quelques expériences préliminaires, nous avons adopté les conditions d'expérience suivantes : dans un tube de 9 millimètres $\times$ 9 centimètres, on laisse se solidifier 2 centimètres cubes de gélatine à 4 o/o ; ensuite on lui superpose 1 centimètre cube d'une solution de colorant à 0,05 o/o ; la diffusion est mesurée après 48 heures de séjour des tubes à $+ 3-3,5^{\circ}$.

Il est très probable que la vitesse de diffusion en gélatine ne traduit pas exactement le degré de dispersion des colorants dans l'eau : il est fort possible qu'au contact du colloïde, la dispersité se trouve modifiée. En plus, interviennent, vraisemblablement, des phénomènes d'adsorption. Mais en raison même de l'existence de ces phénomènes parasites, la vitesse de diffusion en gélatine traduit, peut-être mieux qu'autre chose, le degré de dispersion des colorants, au moment où ils pénètrent dans le gel cytoplasmique. Pour ne pas préjuger des caractères des colorants qui déterminent leur plus ou moins grande diffusibilité dans la gélatine, nous ne parlerons pas de « dispersité », mais « d'indice en gélatine » (*I. G.*), cet indice correspondant à la valeur exprimée en millimètres de la bande de diffusion des colorants dans les conditions d'expérience ci-dessus indiquées (48 heures dans la gélatine à 4 o/o à $3-3,5^{\circ}$).

Ce qui nous intéresse, en particulier, c'est l'*I. G.* dans l'eau de mer (les solutions de colorants dans l'eau de mer sont superposés à de la gélatine à 4 o/o dans l'eau de mer).

Ainsi établi, l'indice en gélatine permet de classer les colorants étudiés en une série de groupes que l'on retrouve, nous allons le voir, quand on fait l'étude de plusieurs autres caractères de ces colorants.

Groupe A (I. G. < 1).

Azoviolet, bleu azoïque, benzoazurine, benzopurpurine ; colorants précipitant fortement au contact de l'eau de mer.

Groupe B (I. G. : de 1,5 à 2).

Trypanobleu, bleu de méthyle, Vitalneurot, rouge thiazine. Précipitation dans l'eau de mer : rapide pour le trypanobleu, lente pour le Vitalneurot, très lente ou nulle pour le rouge thiazine et le bleu de méthyle.

Groupe C (I. G. : de 3 à 12).

Bordeaux R., cyanoquine, coralline, azorubine, rouge rubis, phloxine, fuchsine S, orange I. Colorants stables en présence d'eau de mer.

Groupe D (I. G. > 12).

Carmin azoïque, rhodamine, bleu patent, jaune de naphтол.

Coloration des tests.

On sait que la charge électrique des colorants en solution aqueuse est fortement influencée par la présence d'électrolytes. D'où la nécessité d'établir leurs propriétés en solution dans l'eau de mer.

Suivant le procédé de KELLER (voir dans KELLER, 32), nous nous sommes servi comme tests de coupes à main levée de pétioles de lilas. Ces coupes sont colorées pendant 3 à 4 heures dans 2 centimètres cubes de solutions de colorants à 0,02 o/o dans l'eau de mer, puis examinées au microscope à un faible grossissement dans la solution colorante même.

Les colorants acides du premier groupe (azoviolet, bleu azoïque, benzopurpurine, benzoazurine), précipitables par l'eau de mer, colorent légèrement les anodes (terminologie de KELLER) ou ne colorent rien du tout.

Ceux du deuxième groupe (trypanbleu, bleu de méthyle, Vital-neurot, rouge thiazine) colorent à la fois les anodes et les cathodes.

Enfin, ceux des deux derniers groupes donnent des colorations électives des cathodes.

La fuchsine est fortement décolorée par l'eau de mer ; la coralline colore en un jaune extrêmement pâle.

Action du plasma sur les colorants.

Rappelons que notre hypothèse de travail comporte le postulat d'une adsorption des colorants par les colloïdes contenus dans le liquide à partir duquel s'effectue la chromopexie. De là, la nécessité d'établir le pouvoir adsorbant du plasma des Sipunculidés vis-à-vis des colorants.

Etant donné la faible teneur de ce liquide en colloïdes, l'étude de l'action d'un sérum « standard » sur la série de nos colorants s'imposait d'abord. Nous nous sommes servi du sérum de cheval.

Action du sérum de cheval sur les colorants (effet embatique).

L'effet embatique de l'eau de mer additionnée de 1/5 de sérum de cheval (avec, comme témoin, de l'eau de mer additionnée de 1/5 de solution saline physiologique) n'est pas très marqué.

Nous avons obtenu des résultats plus nets en modifiant l'expérience de la façon suivante :

A de la gélatine à 5 o/o dans l'eau de mer, fondue, puis refroidie à 37-40°, on incorpore : d'une part, 1/5 de sérum de cheval ; d'autre part, 1/5 de solution saline physiologique (gel témoin). Après répartition en tubes et solidification, on ajoute 1 centimètre cube de solutions de colorants à 0,05 o/o dans l'eau de mer, par tube. L'expérience se poursuit à 33°5. Pour chaque colorant, l'I. G. est mesuré sur deux tubes avec sérum et sur deux tubes témoins.

On observe une différence d'aspect entre les tubes avec sérum et les tubes témoins : dans les premiers, la bande de diffusion se termine abruptement ; au contraire, elle est largement dégradée dans les seconds.

Dans ses expériences, BENNHOLD trouve un phénomène identique (modification de l'aspect de la limite inférieure de la bande de diffusion) et l'explique par ce fait que la pénétration du colorant est liée à la pénétration concomitante des colloïdes du sérum dans la gélatine. Dans notre cas, cette explication n'est plus valable, étant donné que le sérum est uniformément réparti dans la gélatine. Les colorants sont vraisemblablement adsorbés par les sérocolloïdes fixés sur la gélatine, et la progression de la bande de diffusion dans une zone inférieure n'a lieu qu'après saturation de la zone précédente. Les sérocolloïdes servent ici, en somme, de mordants pour les colorants vis-à-vis de la gélatine.

Voici les résultats d'une expérience :

Les colorants sont rangés par ordre d'I. G. croissants ; pour chacun des colorants, le premier chiffre correspond à l'I. G. sur sérum, le deuxième — au témoin ; I. G. (2) : indice après 48 heures ; R (2) : rapport entre l'I. G. (2) sur sérum et l'I. G. (2) des témoins. I. G. (4) : l'indice après 4 jours ; R (4) : rapport correspondant.

	I. G. (2)	R (2)	I. G. (4)	R (4)	Effet embatique
	<u> </u>	<u> </u>	<u> </u>	<u> </u>	<u> </u>
Benzoazurine . . . {	1	> 1	1	> 1	+
	0		0		
Trypanobleu . . . {	2	> 1	3	1	0 (+)
	> 1, < 2		3		
Vitalneurot . . . {	2	1	4	1,3	+ (0)
	2		3		
Rouge thiazine . . {	1,5-2	0,8-1	3	0,8	— (0)
	2		4		
Bordeaux R. . . . {	3	1	4	0,7	— (0)
	3		6		
Cyanoquine . . . {	2,5	0,4	6	0,5	—
	6		11		
Coralline {	4		6		
	(Décolorée à la base...)				?

	I. G. (2)	R (2)	I. G. (4)	R (4)	Effet embatique
	—		—		—
Azorubine . . . }	4	0,6	7	0,5	—
	7		14		
Rouge rubis. . . }	4	0,4	7	0,5	—
	9		13		
Phloxine. . . . }	4	0,4	6	0,4	—
	9		14		
Orange I. . . . }	6	0,5	10	0,6	—
	12		17		
Carmin azoïque . }	10	0,8	19	0,8	—
	12		23		
Rhodamine . . . }	12	0,9	18	1,0	— (0)
	14		19		
Bleu patent. . . }	12	0,9	19	0,8	—
	14		23		

On voit que le rapport de l'I. G. en présence de sérum sur l'I. G. des témoins varie d'une façon assez régulière :

Avec les colorants du groupe de l'azoviolet, en absence de sérum, la diffusion est pratiquement nulle; elle a lieu, quoique très lentement (moins de 1 cm. en 4 jours), en présence de sérum; pour ce groupe, le rapport R est donc supérieur à l'unité.

Pour le groupe du trypanoblu, le rapport R est voisin de l'unité. Il continue à diminuer avec le bordeaux R.

Les colorants du groupe C (cyanoquine-orange I) sont caractérisés par un rapport R très faible (0,4 à 0,6).

La valeur de R remonte enfin dans les colorants à l'I. G. très élevé (carmin azoïque, rhodamine, bleu patent).

L'effet embatique, positif ou nul dans les trois premiers colorants, est négatif dans tous les autres.

Notons que les colorants utilisés appartiennent à des familles chimiques très différentes.

Action du sérum de cheval sur les colorations (« effet auxochrome »).

Si les colloïdes du sérum adsorbent les matières colorantes, cette adsorption modifie-t-elle le signe électrique et le pouvoir tinctorial de ces corps ?

Des coupes de pétioles de lilas sont immergées dans des solutions de colorants à 0,05 ou 0 dans l'eau distillée ou dans l'eau de mer, additionnées, d'une part, de 1/5 de sérum de cheval; d'autre part,

de la même quantité de solution saline physiologique. Dans ces conditions, nous n'avons pas constaté de modification nette dans la répartition des parties colorées, mais bien des changements dans l'intensité de coloration ; le sérum exerce, en particulier, une action inhibitrice sur les colorants à « indice-gélatine » moyen (de la cyanoquine à l'orange I). Cependant, une comparaison exacte est rendue difficile en raison de l'épaisseur inégale des coupes. C'est pour cela que nous avons adopté un autre genre de « tests », permettant une évaluation plus précise de l'intensité des colorations : le papier filtre.

Voici, à titre d'exemple, les résultats d'une expérience :

Des languettes de papier filtre de 3×30 millimètres sont plongées par une extrémité dans des godets contenant chacun 10 centimètres cubes de solutions de colorants à 0,005 o/o dans du sérum à 5 o/o dans l'eau de mer, ou (pour les témoins) — des solutions de colorants à la même concentration dans l'eau de mer pure.

La coloration se fait à la température du laboratoire (19°). Le bout immergé des bandelettes est examiné après des temps différents.

S, série avec sérum ; *M*, témoins dans l'eau de mer ; 0, pas de coloration visible ; $\pm$, coloration à peine perceptible ; +, coloration nette ; ++, forte coloration ; +++, très forte coloration. La dernière colonne verticale indique « l'effet auxochrome ».

	5 heures		18 heures		Effet auxochrome
	M.	S	M	S	
Azoviolet	0	+	+	+++	+
Bleu azoïque	0	0	0	+	— (0)
Benzoazurine	0	+	+	+++	+
Benzopurpurine	0	0	+	+	0
Trypanobleu	+++	++	+++	++	—
Vitalneurot	+++	++	+++	++	—
Rouge thiazine	+++	+	+++	+	—
Bordeaux	+++	+	+++	+	—
Cyanoquine	+	0	++	0	—
Azorubine	++	0	+++	+	—
Rouge rubis	+++	0	+++	+	—
Phloxine	++	0	++	0	—
Bleu Poirrier	+	0	+	0	—
Orange I	+++	+	+++	+	—
Carmin azoïque	0	0	+	0	— (0)
Rhodamine	++	++	++	++	0
Bleu patent	0	0	$\pm$	0	— (0)

Nous appelons « effet auxochrome » le changement dans l'intensité de la coloration du test provoqué par l'addition de sérum à

la solution de colorant : à une intensification, correspond un effet auxochrome positif; à un affaiblissement — un effet auxochrome négatif.

On voit que, pour les colorants du groupe de l'azoviolet, l'effet auxochrome est positif ou nul (l'effet positif tient peut-être au fait que la présence de sérum ralentit la précipitation de ces colorants par l'eau de mer).

L'effet auxochrome est négatif avec les autres colorants; avec les trois derniers, il est voisin de 0.

La comparaison de la dernière colonne du tableau avec la dernière colonne du tableau des pp. 208-209 met en évidence un parallélisme intéressant entre l'effet embatique et l'effet auxochrome : positifs ou nuls pour les colorants à I. G. faible, ceux-ci deviennent négatifs pour ceux à I. G. moyen et tendent de nouveau vers zéro dans le bas de la colonne (p. ex. pour la rhodamine S).

Le sérum exerce donc une action semblable sur deux caractères différents des colorants acides étudiés : leur vitesse de diffusion en gélatine et leur pouvoir tinctorial. Les résultats obtenus à l'aide de ces deux méthodes parlent en faveur de l'idée d'une adsorption des colorants étudiés par les colloïdes du sérum : incorporés dans la gélatine, ces colloïdes adsorbent les colorants sur place (d'où une action sur la vitesse de diffusion); la fraction adsorbée des colorants perdrait son pouvoir tinctorial vis-à-vis du papier filtre. Cette adsorption serait insignifiante pour les colorants à I. G. élevés (carmin azoïque, rhodamine, bleu patent, jaune de naphthol). Dans la mesure où l'I. G. traduit l'état de dispersion d'un colorant, on peut dire qu'une adsorption marquée par les colloïdes du sérum n'a lieu qu'en deçà d'une certaine dispersité limite des colorants (¹).

(¹) C'est à dessein que nous maintenons les termes « d'indice-gélatine » et d'effets « embatique » et « auxochrome », sans essayer de les remplacer par ceux de *dispersité* et d'*adsorption par les sérocolloïdes*. Nous réduisons ainsi au minimum la partie inductive de nos conclusions. En effet, quel que soit le déterminisme du phénomène, le point important pour l'étude de la chromopexie est le fait que la présence de sérum modifie la vitesse de diffusion dans les gels (peut-être donc aussi la vitesse de pénétration à travers la membrane cellulaire); — et le pouvoir tinctorial vis-à-vis des tests (peut être donc aussi l'adsorbabilité par les cellules).

Cependant, il est très probable que l'action exercée par le sérum sur les colorants traduit des changements de dispersité et d'état électrique des colorants, résultant d'une adsorption. BOUTARIC et BANÈS (28) prétendent que les sols protéiques n'adsorbent pas les colorants (principe de « l'immunité micellaire »

Effets embatique et auxochrome du plasma et de l'extrait globulaire des Sipunculidés.

Le plasma de Siponcle et de Phascolosome, frais et débarrassé des éléments figurés par une forte centrifugation, exerce sur les colorants acides étudiés une action embatique et auxochrome ; mais comparée à celle du sérum de cheval, cette action est extrêmement faible.

Cependant, comme nous allons le voir, la chromopexie a lieu. D'autre part, comme nous l'avons signalé antérieurement, les leucocytes granuleux étalés sur lamelle peuvent subir des altérations ; en particulier, présenter une rupture et une diffuence de leurs grains spécifiques ; les vésicules énigmatiques peuvent, en se désagrégant, laisser échapper leur contenu. Il en résulte la nécessité de vérifier si les produits de cytolysé sanguine *in vitro* ne pourraient suppléer à la déficience embatique et auxochrome du liquide cœlomique des Sipunculidés.

Nous avons préparé des « extraits globulaires » totaux à partir des culots de centrifugation du liquide cœlomique, lavés plusieurs fois à l'eau de mer.

Sur ces culots lavés, nous avons essayé plusieurs procédés d'extraction différents :

- 1, Un séjour de plusieurs heures dans l'eau de mer à une température de 3° ou de 20°.
- 2, Un traitement de 1 à 2 heures par l'eau distillée.
- 3, Un chauffage rapide dans l'eau de mer à 37° ou à 52°.

Les « extraits globulaires » ainsi préparés possèdent des propriétés embatiques et auxochromes plus marquées que les liquides cœlomiques correspondants.

de Lumière). Mais ROSENTHAL (24) montre que les séro-colloïdes adsorbent une forte proportion de rouge de phénol. F. P. FISCHER (30) observe que la présence de sérum influe sur l'état de dispersion d'une série de colorants. HIRSCHFELD et WRIGHT (30) trouvent qu'un sol d'ovalbumine fixe le violet de méthyle. Le pouvoir adsorbant du sérum vis-à-vis de substances diverses est d'ailleurs bien connu : BEUTNER le met en évidence pour la pilocarpine ; JARISCH (22) montre que l'adsorption peut aboutir à une dissociation complète des savons et à un « masquage » des acides gras. Les séro-colloïdes eux-mêmes sont fortement adsorbés, ainsi que le montrent d'une part les expériences d'ABRAMSON (29), d'autre part celles de LECOMTE DU NOUY (29, bibliogr.). KELLER (31) montre que le sérum inverse la charge électrique de certains colorants.

A titre d'exemple, nous citerons l'expérience suivante :

Phascolosoma vulgare (♂), n° 54 et 55. Les culots de centrifugation du liquide coelomique, lavés à l'eau de mer, sont additionnés d'une quantité d'eau de mer double de celle du plasma. Après un chauffage de 10' à 52°, l'extrait globulaire est isolé par une forte centrifugation.

Additionné de Vitalneurot, l'extrait est mis en présence de papier filtre, avec, comme témoins : 1, le sérum des *Phascolosomes* 54 et 55 et 2, de l'eau de mer.

o, pas de coloration visible; $\pm$, coloration à peine perceptible; +, coloration nette; ++, forte coloration; +++, très forte coloration.

Durée de coloration :	Vitalneurot à 0,0015 o/o		Vitalneurot à 0,01 o/o	
	3 h. 30	20 h.	3 h. 30	20 h.
<i>Extrait globulaire :</i>				
N° 54 . . .	o	$\pm$	$\pm$	++
N° 55 . . .	o	$\pm$	$\pm$	++
<i>Sérum :</i>				
N° 54 . . .	$\pm$	+	++	+++
N° 55 . . .	$\pm$	+	+	+++
<i>Eau de mer :</i>				
N° 1 . . .	$\pm$	++	++	+++
N° 2 . . .	$\pm$	++	++	+++

En résumé, le sérum de cheval exerce sur les colorants acides un effet embatique et un effet auxochrome, tantôt positifs, tantôt négatifs. Les effets embatique et auxochrome exercés par le plasma des *Sipunculidés* sont extrêmement faibles. Plus marqués sont les mêmes effets exercés par les « extraits globulaires ».

Partie expérimentale.

Technique. — Dans l'étude des facteurs externes de la chromopexie, il est nécessaire de pouvoir opérer dans un milieu exempt de colloïdes. L'eau de mer, qui réalise des conditions favorables en ce qui concerne la pression osmotique, est néfaste en raison de sa forte alcalinité; de plus, elle précipite rapidement toute une série de colorants.

Nous avons essayé d'obtenir un pH favorable et de ralentir en même temps la précipitation des colorants en additionnant l'eau de mer d'une solution isotonique de glucose. Il se trouve qu'en ajoutant 5 parties d'une solution de glucose à 18,52 o/o à 9 parties d'eau de mer (de Roscoff), on obtient un liquide possédant un pH

égal à celui du plasma de Phascolosome (indicateur : rouge de phénol) ⁽¹⁾. Ce liquide permet de conserver des leucocytes à l'état normal pendant un temps amplement suffisant à la réalisation des expériences de chromopexie.

Dans le cas le plus simple, 4 gouttes de liquide coelomique sont déposées sur une lamelle. Après un laps de temps de 1 heure à 1 h. 30, destiné à donner aux leucocytes le temps de se fixer, on y ajoute, avec la même pipette, 1 goutte d'une solution de colorant dans l'eau de mer glucosée. La lamelle est examinée au microscope après 2 à 6 heures.

S'il s'agit d'étudier la chromopexie dans un liquide autre que le plasma propre de l'individu, l'excès de sang est rejeté et la lamelle, inclinée, est lavée goutte à goutte avec le liquide à étudier (1 centimètre cube, environ, est employé pour le lavage d'une lamelle); ensuite la lamelle est recouverte de 8 gouttes du même liquide + 2 gouttes de colorant.

Conditions de la chromopexie.

Si l'on abandonne pendant quelque temps sur une lamelle du liquide coelomique de Sipunculidé additionné d'un colorant vital acide, on peut observer l'accumulation de ce colorant dans les éléments suivants :

- 1) Dans les spermatides avancées et les spermatozoïdes (au niveau de l'acrosome).
- 2) Au niveau des grains spécifiques des petits granulocytes (g) du Siponcle (mais pas du Phascolosome).
- 3) Dans tous les amibocytes du Siponcle et du Phascolosome, au sein de vacuoles néoformées.

Le troisième cas correspond seul à une chromopexie. Les deux premiers consistent en une teinture de structures préexistantes. Nous verrons que la coloration des acrosomes et des grains spécifiques des petits granulocytes d'une part, la chromopexie des amibocytes de l'autre, répondent à des déterminismes différents.

⁽¹⁾ Les mesures électrométriques de DOMBROVICEANU et RAPKINE (25) indiquent un pH de 7,65 pour le plasma d'individus sains de *Sipunculus*. Afin de ne pas accumuler inutilement d'erreurs techniques et en tenant compte des variations individuelles possibles, nous avons préféré employer comme tests, non point une solution tampon, mais le plasma même des individus expérimentés.

Coloration des grains des petits granulocytes et des acrosomes. — Sauf les colorants du groupe de l'azoviolet, qui sont fortement précipités; le trypanoblu qui donne des résultats inconstants; la coralline et la fuchsine S, qui sont décolorées, les colorants acides étudiés peuvent tous se fixer sur les grains spécifiques des petits granulocytes du Siponcle et les acrosomes des spermies (Pl. VI, fig. 11 et 19).

L'un des traits les plus caractéristiques de cette coloration, c'est qu'elle n'exige pas un état de vitalité parfaite des éléments en jeu. Elle a lieu aussi bien à $+3^{\circ}$, qu'à $+16^{\circ}$ ou à $+21^{\circ}$. Elle est plus intense en présence d'eau de mer (glucosée ou non) qu'en présence de plasma.

Par contre le sérum de cheval à la dose de $1/20$ l'inhibe presque totalement (en présence de colorants à *I. G.* moyens). Le pH optimum pour cette coloration paraît être compris entre 7 et 8.

Par l'intensité relative de coloration avec différents colorants, aussi bien que par les caractères exposés plus haut, cette teinture des grains spécifiques et des acrosomes rappelle la coloration des pétioles de lilas ou du papier filtre. On ne pourrait, cependant, l'envisager comme une coloration *post mortem* : les spermatozoïdes et les amibocytes restent mobiles et se laissent colorer par les colorants vitaux basiques (Pl. VI, fig. 11).

L'action auxochrome négative du sérum de cheval, du plasma et de l'extrait globulaire (analogue à celle qui s'exerce sur la coloration du papier filtre) permet de croire que la coloration se fait aux dépens de la fraction du colorant non adsorbée par les colloïdes. Ainsi caractérisée, la coloration des grains spécifiques et des acrosomes évoque l'image des colorations vitales de l'école de KELLER.

Notons qu'aucun des colorants vitaux basiques essayés (rouge neutre, bleu de crésyle brillant, bleu de Nil, bleu de toluylène, brun Bismarck) ne colore ni les acrosomes, ni les grains spécifiques des petits granulocytes de Siponcle. Par contre, les grains des petits granulocytes du Phascolosome, qui sont colorables par les colorants vitaux basiques (sauf par le rouge neutre), ne se colorent pas par les colorants vitaux acides. Il y a là une opposition caractéristique des colorations « électrostatiques » (KELLER, 32).

Chromopexie vraie des amibocytes. — Si la coloration de structures préexistantes, précédemment étudiée, répond d'une façon

assez régulière à la variation d'un certain nombre de facteurs simples, il en est tout autrement dans le cas de chromopexie.

La condition primordiale pour que les amibocytes accumulent les colorants acides, consiste en un état de vitalité parfaite de ces cellules. Ainsi, dans nos premières expériences, nous avons obtenu une inhibition du phénomène après remplacement du plasma par l'eau de mer. Toutefois, cette inhibition ne tient pas à une absence de colloïdes, mais à l'action nocive qu'exerce l'eau de mer en raison de son alcalinité : dans le cas du Siponcle, l'eau de mer glucosée, qui assure une vitalité parfaite des amibocytes, exalte le pouvoir chromopexique. Au contraire, chez le Phascolosome, la chromopexie est plus active en plasma qu'en eau de mer glucosée.

Le pouvoir chromopexique est influencé par la température : la chromopexie est très faible à $+ 3^{\circ}$; elle est plus active à $+ 16^{\circ}$ qu'à 19° - 21° ⁽¹⁾.

En général, le pouvoir chromopexique est plus considérable chez le Siponcle que chez le Phascolosome, mais il est sujet à de grandes variations individuelles, dont nous ne saisissons pas le déterminisme.

Le pouvoir chromopexique est sensible à la réaction du milieu : le pH optimum semble être compris entre 6,5 et 7,0 pour le Siponcle, supérieur à 7,0 pour le Phascolosome. Mais là encore il existe des individus à propriétés aberrantes.

Nous avons vu que, chez le Siponcle, l'accumulation des colorants acides était (à pH égaux) plus intense dans l'eau de mer glucosée que dans le plasma. Ce résultat est contraire à tout ce que l'on sait à l'heure actuelle sur les conditions favorables à la chromopexie.

Cependant, l'hypothèse ne peut être exclue *a priori*, qu'une immersion dans l'eau de mer glucosée peut provoquer la diffusion, à partir des éléments figurés du sang, de substances capables de servir de vecteurs aux colorants acides. D'autre part, l'eau de mer glucosée diffère du plasma des Sipunculidés non seulement par une absence de colloïdes, mais encore par la nature des cristalloïdes présents. De là la nécessité de vérifier si un « extrait globu-

(1) Or, la température de $+ 3^{\circ}$ est très défavorable aux Sipunculidés ; la température de $+ 16^{\circ}$ est celle de l'eau des aquariums où les animaux sont conservés ; à 19° , nous avons observé une mortalité élevée. Il semble donc y avoir une certaine relation entre la température optima de la chromopexie et la température favorable à la vie des Sipunculidés.

laire » dans l'eau de mer glucosée, préparé à dessein, ne posséderait point la propriété d'exalter le pouvoir chromopexique. Les données acquises au cours de l'étude du pouvoir embatique et auxochrome des « extraits globulaires » nous servent dans cette préparation.

Cette hypothèse se trouve en défaut : la présence d'extrait globulaire entrave la chromopexie.

Voici les résultats d'une expérience typique :

Sipunculus nudus (♀) n° 16, première saignée.

L'extrait globulaire est préparé de la façon suivante :

Le culot de centrifugation de 2 centimètres cubes de liquide cœlomique est délayé dans 4 centimètres cubes d'eau de mer glucosée et le tout est chauffé pendant 10' à 35°. Après refroidissement, « l'extrait » est isolé par une nouvelle centrifugation.

20 lamelles, chargées chacune de 4 gouttes de sang du Siponcle n° 16 et ayant séjourné pendant deux heures en chambre humide, sont divisées en quatre lots :

A, 6 lamelles sont additionnées chacune de 1 goutte de colorant acide à 0,03 o/o dans l'eau de mer glucosée (la concentration totale du colorant est donc de 0,006 o/o).

B, 6 lamelles sont lavées à l'eau de mer glucosée et recouvertes chacune de 8 gouttes du même liquide + 2 gouttes de colorants à 0,03 o/o.

C, 6 lamelles sont lavées comme précédemment et recouvertes de 8 gouttes d'« extrait globulaire » + 2 gouttes de colorant.

D, Les deux dernières lamelles vont servir à l'exécution de préparations histologiques pour l'identification des éléments sanguins expérimentés. Dans le tableau qui suit, pour plus de concision, ne sera indiqué que la chromopexie dans les microphages :

o pas de chromopexie.

+ vacuoles colorées dans quelques rares cellules.

++ de nombreuses cellules contiennent des vacuoles colorées.

+++ vacuoles colorées dans la grande majorité des cellules.

Voici les résultats après un séjour de 6 heures à 19° :

	A Plasma	B Eau de mer glucosée	C Extrait globulaire
Trypanobleu.	+	+++	+
Vitalneurot	+	++	+
Rouge thiazine	+	++	±
Bordeaux R.	++	+++	o
Asorubine	o	+	o
Rhodamine	o	o	o

Notons que les lamelles des séries B et C sont chargées d'une quantité de liquide double de la série A (ce qui présente des avantages techniques).

Cette différence n'a pas de répercussion sur l'intensité de la chromopexie, étant donné que le colorant est fortement en excès (la concentration des colorants est partout la même).

L' « extrait globulaire » donne donc lieu à une chromopexie beaucoup moins considérable que l'eau de mer simplement glucosée. Autrement dit, les substances que les éléments figurés peuvent céder à l'eau de mer glucosée n'exercent sur la chromopexie qu'un effet nocif.

Les résultats sont différents dans le cas du Phascolosome. Ici l'eau de mer glucosée assure une chromopexie plus intense que l'eau de mer pure, mais moindre que le plasma. Le « lysat globulaire » dans l'eau de mer, obtenu par un chauffage de 10° à 52°, donne en général des résultats supérieurs au plasma; il donne au contraire des résultats inférieurs quand il est préparé par un contact de 24 heures à 0°. Ajoutons à tout cela de grandes variations individuelles.

Un coup d'œil d'ensemble sur tous ces résultats nous incline à croire que les différences que nous observons dans la chromopexie doivent être attribuées en grande partie à des différences dans l'état physiologique (voir même l'état de vitalité) des amibocytes et non point à des modifications dans l'état physique des colorants.

On pourrait pourtant se demander (en outrepassant quelque peu l'idée d' « ultraphagocytose » de HAAN) si ce sont, non point les colloïdes présents dans le sérum, mais des unités plus grosses, des submicrons, qui serviraient de support aux colorants. D'où la nécessité d'une dernière série d'expériences : du sérum de cheval à 2 o/o dans l'eau de mer glucosée est chauffé au bain-marie jusqu'à apparition d'une forte opalescence. Le liquide ainsi obtenu exerce sur les colorants du groupe C une action auxochrome négative plus considérable que le sérum à 2 o/o non chauffé.

En ce qui concerne la chromopexie, nous n'avons pas constaté de différence entre l'action du sérum à 2 o/o chauffé et non chauffé.

Les résultats obtenus jusqu'ici sont, somme toute, défavorables à notre hypothèse de travail et aussi à la théorie de DE HAAN et de KEDROWSKI. Une seule idée se dégage de nos résultats d'une façon nette, c'est la différence essentielle qui existe entre la teinture d'acrosomes ou de grains spécifiques et la chromopexie vraie ⁽¹⁾.

(¹) Il est bien entendu que l'accumulation des colorants acides au niveau de l'appareil de ségrégation ou de ses produits, telle qu'elle a été décrite dans d'autres cas (cellules intestinales, néphrocytes, Opalines) fait partie, à notre avis, de la chromopexie vraie et non point de phénomènes de teinture.

Etude cytologique de la chromopexie ⁽¹⁾.

Les colorants acides s'accumulent dans le cytoplasma des amibocytes à l'intérieur de petites vacuoles, dont l'aspect varie suivant la nature du colorant et l'espèce de l'amibocyte. Tantôt on observe des vacuoles très fines et nombreuses, tantôt un petit nombre de vacuoles plus grosses. Le contenu de ces vacuoles est parfois homogène; le plus souvent elles contiennent de fins flocculats de colorants dans un liquide faiblement coloré. Les vacuoles à colorants acides peuvent occuper dans le cytoplasme des positions différentes: tantôt elles se groupent autour du cytocentre, dans la région même occupée par les éléments du vacuome (Pl. VI, fig. 15); tantôt elles occupent (dans les cellules étalées) la zone périphérique du granuloplasme, à la naissance de la couronne hyaloplasmique (Pl. VI, fig. 16, 17, 18).

La phagocytose de flocculats de colorants extracellulaires, la coloration d'enclaves phagocytaires ou la phagocytose de débris cellulaires colorés peuvent donner des images ressemblant à la chromopexie vraie; une certaine habitude permet seule d'éliminer ces causes d'erreur au premier coup d'œil.

Une coloration vitale par un colorant basique à la suite de l'accumulation d'un colorant acide permet de démontrer l'indépendance des vacuoles à colorants acides et des éléments du vacuome. Contrairement à ce que MÖLLENDORFF observe dans le rein larvaire des Batraciens, les vacuoles préexistantes ont ici une affinité plus grande pour les colorants basiques que n'ont les vacuoles à colorants acides; on obtient donc facilement des doubles colorations: les vacuoles préexistantes étant colorées par le colorant basique, les vacuoles chromopexiques — par le colorant acide.

Nous avons dit que les éléments du vacuome participaient à la formation des gastrioles et que, d'un autre côté, le vacuome était indépendant des vacuoles à colorants acides. Une dernière relation demandait à être établie: celle entre les vacuoles à colorants acides et les gastrioles.

(1) Kiyono et Nakanoïn (18) sont, à notre connaissance, les seuls auteurs qui aient étudié la chromopexie dans les amibocytes de Sipunculidés (*Phascolosoma*). Mais il est difficile de dégager une conclusion quelconque de leur description succincte et de la figure qui l'accompagne.

Dans ce but, des amibocytes ayant phagocyté une suspension (par exemple de l'amidon de riz) sont mis en présence d'un colorant acide.

Il se trouve que les vacuoles chromopexiques sont, le plus souvent, indépendantes des gastrioles ; cependant on les observe assez fréquemment au contact de ces dernières.

L'existence de ces rapports détermine une certaine similitude entre les figures de chromopexie et les figures de confluence du vacuome avec les progastrioles.

Notons que, dans le cas des colorants acides, les gastrioles colorées sont beaucoup moins nombreuses. Nous ne pouvons offrir que leur coloration soit le résultat d'un déversement à leur intérieur de vacuoles chromopexiques formées autre part. Cependant, l'analogie qui existe entre les figures de vacuoles à colorants acides entourant des grains d'amidon phagocytés (Pl. VI, fig. 20, 21, 22) et les figures « en rosette » du vacuome (Pl. VI, fig. 1a, b) rend cette hypothèse plausible.

Ce serait alors un caractère commun intéressant entre les vacuoles chromopexiques et les éléments du vacuome, à ajouter à ceux dont parle von MÖLLENDORFF : non seulement les vacuoles chromopexiques seraient (comme les éléments du vacuome) colorables par les colorants basiques, mais elles jouiraient aussi, dans une certaine mesure, de la propriété de fusionner avec les progastrioles.

Accumulation d'autres substances colloïdales et de suspensions fines.

Parmi les quelques corps essayés, le « bleu de Prusse soluble » et le collargol n'ont pas donné de résultats satisfaisants, en raison de leur grande sensibilité à l'action précipitante de l'eau de mer. L'encre de Chine est accumulée dans de petites vacuoles indépendantes du vacuome.

Le saccharate de fer, mis en évidence, après fixation, par la méthode du bleu de Prusse, donne lieu à des figures rappelant celles de la chromopexie (Pl. VI, fig. 24). On observe également la coloration de quelques gastrioles (fig. 23 et 25).

Conclusions.

La chromopexie des amibocytes des Sipunculidés répond donc aux caractères suivants :

1) *Elle est distincte de la teinture d'organites préexistants (acrosomes, grains spécifiques).*

2) *Elle nécessite un état de vitalité parfaite des cellules.*

3) *Elle est sensible à la température, au pH, à la composition du milieu.*

4) *Elle n'est pas forcément liée à la présence de colloïdes dans le milieu : un appauvrissement en colloïdes peut l'exalter.*

5) *Les colorants acides sont accumulés dans des vacuoles indépendantes des éléments du vacuome.*

6) *Les vacuoles chromopexiques semblent avoir pour les pro-gastrioles une affinité analogue à celle des éléments du vacuome.*

7) *L'encre de Chine et, semble-t-il, le saccharate de fer se comportent à l'intérieur des cellules de la même façon que les colorants acides.*

Remarquons que, même après un lavage des amibocytes à l'eau de mer glucosée, nous ne pouvons affirmer que la chromopexie prenne place dans un milieu totalement dépourvu de colloïdes « vecteurs ». En effet, les substances constitutives des grains spécifiques des granulocytes peuvent diffuser dans le milieu ambiant. ABRAMSON (29) montre que la présence de traces infimes de séro-colloïdes suffit pour conférer des caractères particuliers à des particules en suspension : des particules de quartz en suspension dans du sérum dilué au millionième possèdent, à la cataphorèse, des caractères de protéines ; l'effet du sérum se fait encore sentir à une dilution de 10^{-7} . Ces faits suffisent pour jeter le doute sur la valeur des expériences de phagocytose « spontanée » (OUWELEEN) et, en même temps, sur celles de chromopexie qu'on pourrait qualifier — par analogie — de chromopexie « spontanée ». Mais, si dans notre cas, la chromopexie dans l'eau de mer glucosée n'avait eu lieu qu'à cause de la présence de traces de colloïdes, la présence d'« extraits globulaires » aurait dû provoquer une intensification du processus. Or, il résulte de nos expériences que c'est souvent l'inverse qui a lieu. Il n'y a donc pas de relation directe entre l'intensité de la chromopexie et la quantité de colloïdes présents.

Aucune relation directe, non plus, entre la possibilité de chromopexie et le signe de l'effet embatique et auxochrome exercé par le plasma sur les colorants. Cette constatation infirme l'hypothèse de travail que nous avons déduite des résultats de DE HAAN et de KEDROWSKI et limite, en même temps, la portée générale de ces résultats. Dans l'étude expérimentale de la chromopexie, l'état fonctionnel des cellules (facteurs intrinsèques) est au moins aussi important que l'état physique des colorants (facteurs extrinsèques). Les expériences de HERTZ et de KEDROWSKI montrent bien que la présence de narcotiques dans le milieu provoque le même résultat que l'absence d'albumoses. Il n'est pas démontré que dans les deux cas ce n'est pas l'état des cellules en jeu (et non celui des colorants) qui est modifié. Ou bien, encore, les colorants, pour être accumulés, doivent répondre à un certain nombre de caractères physiques (différents dans le cas de cellules différentes), caractères qu'ils peuvent déjà posséder dans les solutions aqueuses, ou qui ne leur sont conférés que par la présence de sérum. Nous reparlerons ultérieurement de cette dernière hypothèse (pp. 231, 232).

En tout cas il faut distinguer la chromopexie de la *teinture vitale* par les colorants acides. On peut ranger sous cette dernière rubrique les colorations des cellules végétales de KÜSTER (11), RUHLAND (12-24), SEO (23) et celles de GICKLHORN (27, 30) et de KELLER (32, bibliogr.).

D'un autre côté, l'effet embatique et auxochrome *négatif* du sérum vis-à-vis de la grande majorité des colorants étudiés peut être comparé à l'effet antagoniste que la présence de sérum exerce sur la grande majorité des agents antiseptiques (matières colorantes, composés minéraux ou organo-métalliques), ainsi que cela a été démontré par BROWNING et ses collaborateurs (voir dans E. FOURNEAU, 25, bibliogr.). Dans notre matériel, la *teinture* des acrosomes et des grains spécifiques se rattache au cas général. Cette règle semble prévoir l'existence d'un équilibre entre la fixation des substances les plus diverses sur les cellules et leur fixation sur les séro-colloïdes. Au contraire, la chromopexie échappe à cette règle : ici les séro-colloïdes se comportent tantôt comme des substances vectrices, tantôt donnent lieu à des phénomènes plus complexes. Ceci conduit à envisager l'existence possible de *conditions très particulières à la surface des cellules pourvues de la fonction chromopexique*.

Considérations générales.

Aspect cytologique de la chromopexie.

VON MÖLLENDORFF (20) insiste sur l'analogie entre les « granula » naturels des cellules (éléments du vacuome) et les « granula » néoformés sous l'action des colorants acides.

La coloration d'enclaves préexistantes est interprétée comme une formation de « granula mixtes », de même qu'on peut obtenir des granula mixtes par l'introduction successive de deux colorants acides (VON MÖLLENDORFF, 25).

La même analogie caractérise la répartition du vacuome et des vacuoles chromopexiques. En particulier, dans les cellules à vacuome localisé, c'est dans la région où se concentre le vacuome (« zone de Golgi » de PARAT) que se forment généralement les vacuoles chromopexiques. Sur ce point les auteurs sont d'accord : ceux qui sont partisans d'une indépendance de « l'appareil réticulaire de Golgi » (NASSONOV, 27 ; CHLOPIN et CHLOPIN, 25 ; MAKAROV, 26, 31 ; GLAZUNOW, 28, 29 ; SAWELSOHN, 29) parlent d'un « rôle condensateur » de cet « appareil » ; ceux qui sont partisans de la nature artificielle de cet « appareil réticulaire », disent que la « zone de Golgi » est un point de prédilection pour les phénomènes de séparation de phases, aussi bien dans le cas des vacuoles naturelles, que dans le cas de vacuoles chromopexiques (PARAT, 28 ; FEYEL, 28). De toute façon, ce fait est interprété comme un argument de plus en faveur d'une analogie entre le mode de formation des éléments du vacuome et des vacuoles chromopexiques.

Dans d'autres cas, la chromopexie n'est pas localisée (types « néphrocytaire » et « mitochondrial » de CHLOPIN). Dans les amibocytes de Sipunculidés, à côté de la « chromopexie centrale » (coïncidant avec la localisation du vacuome), il existe une « chromopexie périphérique ». Cependant, c'est là un cas particulier et la coïncidence topographique entre éléments du vacuome et vacuoles chromopexiques n'en reste pas moins un cas général.

Chromopexie et perméabilité cellulaire.

La pénétration des colorants colloïdaux a été envisagée à maintes reprises dans ses rapports avec la perméabilité cellulaire.

Il n'y a pas lieu dans ce chapitre de faire une revue détaillée du problème complexe et plein de contradictions de la perméabilité.

Les théories de perméabilité cellulaire peuvent être rangées en deux grands groupes, suivant la voie que chacune d'elles fait adopter aux substances perméantes :

1, les substances entrent sans quitter la phase aqueuse (M. TRAUBE, 67 ; RUHLAND, 08-24 ; RUHLAND et HOFFMANN, 25, *bibliogr.* ; MICHAELIS et FUJITA ; MICHAELIS, 25, *bibliogr.* ; MICHAELIS et WEECH, 27 ; WEECH et MICHAELIS, 28 ; H. PFEIFFER, 27, *bibliogr.*). C'est la théorie de l'ultra-filtration, perfectionnée plus tard par l'introduction de facteurs électrocapillaires.

2, les substances se dissolvent au passage dans une phase non aqueuse (lipoidique) (OVERTON, 95 ; HÖBER ; OSTERHOUT, DAMON et JACQUES, 28 ; IRWIN, 27-29 ; NORTHROP, 28-29).

Suivant la théorie de tensioactivité (TRAUBE, 04-14 ; TRAUBE et YUKIMURA, 25 ; TRAUBE et DANNENBERG, 28, *bibliogr.*), les substances se concentreraient à la surface de la cellule, « ce qui créerait des conditions favorables à leur pénétration ». Ce n'est donc plus exactement une théorie de perméabilité. Il en est de même pour la théorie d'adsorption (SZÜCS, 10 ; ENDLER, 12 ; CZAPEK, 14 ; COLLANDER, 21).

Etant donné qu'aucune de ces théories ne rend compte à elle seule de tous les phénomènes de perméabilité, une série d'auteurs admettent l'existence de plusieurs voies de passages pour les substances (NATHANSON, 04 ; CLOWES, 16 ; HÖBER et HÖBER, 28 et son école ; COLLANDER et BÅRLUNG, 26 ; COLLANDER, 28 ; FREUNDLICH, 24).

La théorie de la perméabilité de BETHE et de son école (ROHDE, POHLE) cesse d'en être une, étant donné que le passage des substances s'y confond avec leur accumulation (ce qui résulte, en particulier, des travaux de MOMMSEN, 25, 26). De plus, elle n'est pas conforme aux faits (voir : RUMIANTZEFF et KEDROWSKI, 27). De même, la théorie de M. H. FISCHER (voir LIESEGANG, 28) et celle de LAPICQUE (25) (voir : CHAMBERS, 30).

L'accumulation des colorants acides non lipo-solubles va à l'encontre de la théorie lipoidique. Même si nous admettons que les lipoides cellulaires ont des propriétés physiques très différentes des lipoides extraits (HANSTEEN-CRANNER, 22 ; GRAFE, 25 et ses élèves) et se distinguent profondément des solvants organiques étudiés (LEWE, 12), nous ne sommes pas plus avancés pour expliquer le passage des métaux colloïdaux et des protéines (*vectrices*).

HÖBER (14) fait de la chromopexie un cas de « perméabilité physiologique ». Cette « perméabilité physiologique » est censée rendre compte d'une série de phénomènes très différents. Pour expliquer la chromopexie, HÖBER (*loc. cit.*) se contente d'invoquer « eine aktive Tätigkeit der Zelle ». Autrement dit, quand les faits ne cadrent plus avec la théorie, l'auteur se contente d'incriminer la bonne (ou la mauvaise) volonté des cellules. La théorie « mosaïque » rejette le cas des colloïdes, insolubles dans les lipoides, dans la théorie de l'ultrafiltration. Mais précisément, le passage de colorants et de métaux colloïdaux renverse toute notion de crible moléculaire. Et si nous invoquons l'image de DEBYE pour en conclure que des colloïdes peuvent passer là où des électrolytes ne passent pas, que deviennent les notions fondamentales de GRAHAM, qui nous enseignent que c'est l'inverse qui a lieu ?

On peut se demander si une adsorption à la surface cellulaire ne provoque pas une désagrégation de l'édifice micellaire des colorants acides, en créant ainsi des conditions nouvelles pour l'ultrafiltration ⁽¹⁾. Mais ce raisonnement est encore inapplicable au cas des colloïdes métalliques et des protéines. Or, il n'y a aucune raison d'admettre pour le cas des colorants acides un mécanisme qui ne soit pas applicable en même temps au cas du collargol ou de l'encre de Chine.

Bref, nous ne voyons pas comment l'entrée des substances sujettes à la chromopexie peut s'accorder avec une théorie de perméabilité cellulaire, en tant que toute théorie de perméabilité (*sensu stricto*) suppose l'existence d'une membrane à structure fixe ; donc, d'une architecture ultramicroscopique qui assure à elle seule le

(1) La tensioactivité des substances semble, en effet, varier dans le même sens que leur état de dispersion. Les expériences de BERZELLER et CSAKI (13) avec les alcaloïdes et celles d'OKUNEFF (28) avec la lécithine montrent bien qu'il existe une sorte d'antagonisme entre l'état colloïdal des corps et leur tensioactivité. Une idée semblable est exprimée par LECOMTE DU NOUY (29).

passage de certaines substances (et le non passage d'autres) par un processus pour ainsi dire « statique ». Et, même quand on admet des variations dans l'architecture de la membrane (HÖBER, *pro parte*; CLOWES; HERLANT), ces variations consistent dans la substitution momentanée d'une certaine structure statique à une autre.

Dans notre cas particulier, la chromopexie des petits granulocytes, phénomène lent, s'oppose à la coloration (beaucoup plus rapide) des grains spécifiques de ces cellules; cette coloration coïncide avec une inhibition de la chromopexie. Il en ressort que la pénétration libre des colorants acides dans les cellules (donnant lieu à une teinture) nécessite une altération de la perméabilité cellulaire. Autrement dit (s'il nous est permis de nous exprimer en paradoxes) la chromopexie coïncide avec un état d'*impermeabilité* de la cellule aux colorants accumulés. La pénétration de ces corps ne peut s'expliquer (mis à part les comparaisons anthropomorphiques) que par un bouleversement local profond de l'architecture ultra-microscopique hypothétique de la membrane cellulaire. Ceci nous conduit à la comparaison de la chromopexie avec la phagocytose, comparaison qui fera le sujet du chapitre suivant.

De toute cette discussion, retenons ces conclusions :

1, *La chromopexie n'est pas un problème de perméabilité cellulaire* (1).

2, *La chromopexie peut être envisagée comme un problème de phagocytose.*

Chromopexie et phagocytose.

EVANS, SCHULEMANN et WILLBORN (14) ont déjà été frappés par l'analogie topographique qui existe entre la phagocytose et la chromopexie. Cette notion est résumée dans un passage, devenu classique, où il est dit que toutes les substances électronégatives (colloïdes et suspensions) sont accumulées aux mêmes endroits (SCHULEMANN, 17). En introduisant la conception d'ultraphagocytose, J. DE HAAN (23) renchérit dans le même sens; il introduit de plus l'hypothèse de « substances vectrices », protéiques, sœurs des

(1) EVANS et SCHULEMANN (14, 15) ont déjà professé cette opinion; plus tard elle est développée par J. DE HAAN (23). Voir aussi la jolie synthèse de R. LIESEGANG, dans : *Biologische Kolloidchemie*, 1928, p. 55.

opsonines. HÖBER (14) et HERTZ (22) veulent expliquer la « perméabilité physiologique » des Opalines par une sorte de « dévorement actif » (« aktives Zerfressen ») des colorants. BRATIANU et GUERREIRO (30) envisagent la colloïdopexie et la phagocytose comme deux manifestations distinctes de la fonction histiocyttaire.

Nous avons exposé plus haut les raisons pour lesquelles il nous était impossible d'envisager la chromopexie comme un problème de perméabilité cellulaire.

Nous envisageons ici les rapports entre la phagocytose et la chromopexie et ceci à deux points de vue :

- 1, En ce qui concerne le déterminisme de pénétration des corps étrangers dans la cellule ;
- 2, En ce qui concerne la destinée ultérieure des corps étrangers à l'intérieur du cytoplasme.

*Données sur le déterminisme de la pénétration
des particules étrangères à l'intérieur des cellules.*

Dans sa définition de la phagocytose, METCHNIKOFF (83) distinguait trois temps : 1, le rapprochement entre le phagocyte et la proie ; 2, l'accolement ; 3, la circonfusion.

Ce sont le deuxième et le troisième temps qui nous intéressent immédiatement. L'expérience montre qu'ils peuvent être dissociés. Prenons un exemple concret.

LAVERAN et MESNIL, MESNIL et BRIMONT (voir *in* LAVERAN et MESNIL, 12, *bibliogr.*) montrent que la phagocytose de Trypanosomes par des leucocytes d'animaux immunisés est précédée d'une fixation du Protozoaire à la surface du leucocyte, généralement par son extrémité postérieure. LEVADITI et MUTTERMILCH (10) montrent que ce premier temps persiste, même lorsque l'englobement est inhibé, les leucocytes étant tués par chauffage ou congélation, ou bien, l'expérience étant faite à basse température.

Il faut donc envisager deux sortes de facteurs : 1, il existe une affinité quelconque entre la surface de la particule et la surface du phagocyte ; en vertu de cette affinité, l'interface particule/phagocyte s'établit et tend à s'accroître ; 2, la rigidité du cytoplasme s'oppose aux déformations du phagocyte et par conséquent à l'ingestion ; celle-ci ne peut donc avoir lieu qu'en deçà d'une certaine rigidité limite du cytoplasme.

Envisageons d'abord les facteurs d'adhérence.

La charge électrique des particules (microscopiques ou ultramicroscopiques) d'une suspension contribue à la stabilité de cette suspension en s'opposant au rapprochement de ces particules ; l'annulation de cette charge favorisera donc la floculation en permettant aux particules envisagées de se rapprocher à des distances telles que les forces de cohésion puissent se manifester.

En plus des phénomènes de floculation des colloïdes (suspensions) et de l'agglutination des suspensions, on peut envisager à ce point de vue le phénomène d'adhésion des particules aux phagocytes : ce serait un cas d'agglutination hétérologue (NICOLLE et CESARI, 22). Mais FENN (21/2) trouve qu'il n'y a pas de concordance parfaite entre la charge électrique des particules et l'intensité de la phagocytose. FAURÉ-FRÉMIET et NICHITA (27_{a, b} et _c) montrent que le rôle prépondérant dans le mécanisme de l'adhésion revient à la nature des surfaces adhérentes. Le facteur électrique ne joue, en somme, qu'un rôle *préparatoire*. On peut en dire de même du rôle de l'induction électrique envisagé par PONDER (26).

Dans l'adhésion, c'est à la nature des surfaces (à leurs caractères de mouillabilité) que revient le rôle principal. L'action favorisante exercée par le sérum (OUWELEEN, 17 ; FENN, 20/1, 21/2) en est une démonstration. Mais les expériences mêmes de FENN (*loc. cit.*) montrent que l'action du sérum se réduit à conférer aux particules certains caractères physiques nécessaires pour leur englobement : ces caractères, les particules peuvent les posséder naturellement ; la présence de sérum n'exerce alors aucun effet sur la phagocytose. MUDD et MUDD (24), MELLON (26), MUDD et BARCLAY (26), étudient le comportement des bactéries et des phagocytes à l'interface eau/huile. MUDD et MUDD (27) montrent que les anticorps modifient les caractères capillaires des bactéries. MUDD, LUCKÉ, MC CUTCHEON et STRUMIA (29) ; LUCKÉ, MC CUTCHEON, STRUMIA et MUDD (29) ; MC CUTCHEON, STRUMIA, MUDD, MUDD et LUCKÉ (29) démontrent que l'action des anticorps sur la phagocytose du bacille tuberculeux est parallèle à leur action sur les caractères physiques de la surface du bacille.

L'introduction du facteur *tension interfaciale* a permis à TAIT (20) d'envisager la phagocytose et l'étalement des choanoleucocytes comme une fonction continue. L'expression mathématique de cette conception a été par la suite l'objet de justes critiques (FENN, 21/2 ; MUDD et MUDD, 24 ; PONDER, 26 ; LISON,

29) ; en effet, l'englobement complet d'une particule, déterminé uniquement par le jeu des forces de tension interfaciale, correspond à des conditions d'un étalement indéfini, contrairement à ce qui a lieu en réalité (sauf dans le cas des « corpuscules explosifs » de HARDY). Mais TAIT dans sa théorie ne tient pas compte du facteur *déformabilité limite* du cytoplasme. Or, ... « il est plus facile pour une cellule de s'épancher autour d'une petite particule qu'autour d'une grande, dit FENN (*loc. cit.*), parce que la déformation (*dans le premier cas*) est moindre ». TAIT part de l'idée d'une tension interfaciale (cellule/eau) positive. On peut donner à la théorie capillaire un aspect nouveau, en introduisant dans la formule de TAIT-PONDER une valeur négative et très petite pour la tension interfaciale cellule/eau (voir plus haut, p. 165).

Si l'étalement et la phagocytose peuvent être envisagés comme deux aspects d'un même phénomène, ni dans un cas, ni dans l'autre, on ne peut assimiler un amibocyte à une goutte liquide à déformabilité illimitée. D'ailleurs les choanoleucocytes étalés n'affectent pas des formes de calottes sphériques très aplaties (comme le ferait prévoir la formule de TAIT), mais bien de disques minces à bords souvent épaissis (comme le montrent les mesures optiques de FAURÉ-FRÉMIET, 29). Les relations des phagocytes avec les corps environnants ne coïncident pas avec un équilibre capillaire du système, mais avec un équilibre entre les forces capillaires (tension ou poussée interfaciales) et les forces de cohésion du cytoplasme (la viscosité, qui limite la rapidité des déformations, et l'élasticité, qui en limite l'amplitude) (1).

TAIT (*loc. cit.*), puis de HAAN (22), envisagent la phagocytose et l'étalement comme des phénomènes *statiques*, où l'amibocyte peut être considéré comme une unité immuable (ces phénomènes s'opposant ainsi à la mobilité amiboïde). Le glissement des amibocytes le long des surfaces serait un phénomène de même ordre. Ce point de vue est critiqué par LISON (*loc. cit.*). Si la théorie capillaire peut rendre compte du mécanisme immédiat d'un étalement circulaire (*symétrique*), en l'état actuel de nos connaissances, il est préférable d'envisager le glissement des amibocytes comme traduisant des mouvements de pseudopodes pétaloïdes transportés de l'espace sur un plan par une force d'adhésion capillaire (2) : les pseudopodes seraient « captés » par la surface étrangère ; cette analogie ressort aussi des films cinématographiques de CARREL (28) et de Mme FRANÇOIS-FRANK et FAURÉ-FRÉMIET (28). Nous avons parlé plus haut (p. 169) de l'interprétation mathématique que l'on peut donner de l'existence de cellules immobiles capables de phagocytose et d'étalement.

Si, dans les cas d'étalement dissymétrique et de glissement sur les surfaces étrangères, les leucocytes ne peuvent être envisagés comme des unités immuables, cette interprétation « dynamique » peut-elle être appliquée de même aux processus de phagocytose ?

L'accroissement considérable de la vitesse de phagocytose entre 20° et 30° peut s'expliquer par une chute brusque de la viscosité

(1) Voir HEILBRUNN (26) et SEIFRITZ (26) pour la mesure, dans laquelle les conceptions de « viscosité » et d' « élasticité » peuvent être appliquées au cas du cytoplasme.

(2) En dehors de cas spéciaux, comme celui étudié par FAURÉ-FRÉMIET et WALLICH (25).

cytoplasmique (FENN, 22), ce qui est d'accord avec les mesures de ARICZ, CHICK, etc. (viscosité des colloïdes *in vitro*). Mais des changements de viscosité expliqueraient difficilement l'existence d'un optimum thermique de phagocytose exactement superposable à la température du corps de l'animal dont proviennent les phagocytes (MADSEN, WULFF et WATABIKI, 19; MADSEN et WULFF, 19). FENN (*loc. cit.*) fait intervenir alors un « facteur léthal »; mais l'introduction même de ce facteur indique qu'une simple interaction des forces capillaires et de la viscosité protoplasmique ne suffit pas pour expliquer l'ensemble du phénomène. Peut-on supposer que la cellule phagocytaire réagisse à l'adhésion d'une particule étrangère par une fluidification locale de son cytoplasme — d'ordre « tixotropique » ⁽¹⁾, dans le sens de PETERFI (voir : FREUNDLICH, 28)? A l'heure actuelle, ce n'est qu'une hypothèse. Si on tient compte de l'importance et de la multiplicité des facteurs *intrinsèques* qui définissent l'état d'activité des phagocytes (voir *in* LIESEGAN, 28, p. 50), on est obligé de reconnaître que *l'ensemble du processus phagocytaire* échappe encore à l'analyse ⁽²⁾.

Dans quelle mesure l'analyse du mécanisme de la phagocytose peut-il éclairer le mystère de la « perméabilité physiologique » aux colorants acides?

Pour comparer les deux phénomènes, il faudrait transporter aux dimensions ultra-microscopiques les facteurs envisagés précédemment comme étant responsables de l'englobement des particules par les phagocytes. Cela reviendrait à envisager dans la chromopexie un temps d'adhésion suivi d'une déformation locale du cytoplasme superficiel.

En ce qui concerne le facteur électrique de l'adhésion, il existe une continuité parfaite entre les particules microscopiques et les micelles adsorbées. Cette notion appartient à SCHULEMANN (17); nous en avons parlé plus haut.

(1) C'est-à-dire, — par un changement profond de l'état physique. Il semble, en effet, y avoir un véritable changement d'état physique du cytoplasme, comme réponse à l'adhésion d'une particule. Un phénomène de cet ordre pourrait seul expliquer ce fait que les leucocytes ingèrent de gros grains de quartz, de préférence à des petits (FENN, *loc. cit.*).

(2) Y. ABE (25) insiste également sur l'importance des facteurs *intrinsèques*. Non seulement les sécrétions des glandes endocrines, mais les rayons mitogénétiques eux-mêmes exerceraient une action mesurable sur l'intensité de la phagocytose (KOWARZYK et LACH, 32).

Le facteur capillaire devrait être, lui aussi, transporté à l'échelle micellaire et moléculaire. Les expériences de DEVAUX avec le mouillage de la cire et les acides gras, d'un autre côté — celles de LANGMUIR et de HARKINS, montrent que mouillabilité et adsorption sont toutes deux fonctions des mêmes affinités entre groupements atomiques. Ceci met en continuité les expériences de MUDD et MUDD (*loc. cit.*) avec celles d'OKUNEFF (27, 28, 30) qui, de son côté, démontre une adsorption de suspensions (bactéries, cinabre, encre de Chine), de colloïdes divers et de colorants (carminate, trypanobleu) à l'interface eau/benzène. Est-il donc possible d'envisager l'adsorption comme un premier temps de la chromopexie ?

Les expériences d'OKUNEFF (30) montrent qu'une diminution de l'énergie interfaciale (en présence de cholestérine ou de lécithine) inhibe l'adsorption du trypanobleu. Il faudrait donc s'attendre à ce que les colloïdes du sérum, fortement tensioactifs (voir, en particulier, les expériences de KŘIŽENECKY et DUBSKA, 27), inhibent la chromopexie au lieu de l'exalter. Parallèlement, MUDD et MUDD trouvent que l'affinité des bactéries pour la phase organique est diminuée par l'action du sérum et, surtout, des anticorps, « comme si les bactéries se trouvaient recouvertes d'une couche de globulines dénaturées ». Dans les deux cas, l'action *opsonique* est inversée. A nos yeux, ceci est une preuve de plus, s'il en est besoin, que l'interface eau/phagocyte ne peut être assimilée à une interface eau/benzène ; nous ne savons rien de son énergie interfaciale ; dans la majorité des cellules la tension interfaciale eau/cytoplasme paraît positive. Dans le cas des choanoleucocytes nous avons envisagé l'hypothèse d'une tension interfaciale négative. Cette hypothèse permet d'interpréter les résultats de MUDD et MUDD à la lumière de la théorie capillaire (voir plus haut, p. 167). Le même raisonnement permet, semble-t-il, d'interpréter les résultats d'OKUNEFF (1). Nous avons vu que dans la majorité des cas la présence de sérum exerçait une

(1) Ainsi, il existe des cas, où les sérocolloïdes semblent servir de mordants pour les colorants vis-à-vis de la phase organique : ceci dans le cas de gels hydrophiles (gélatine), comme nous l'avons indiqué p. 208. Si l'on considère que les gels gonflables présentent une tension interfaciale négative au contact de l'eau (voir p. 164), l'observation ci-dessus constituerait une preuve nouvelle de notre hypothèse.

Notons qu'une tension interfaciale négative ne conduit pas forcément à une déformation amiboïde, étant donné, toujours, l'intervention d'un deuxième facteur — celui de la rigidité du cytoplasme.

action opsonique sur la chromopexie (comme sur la phagocytose) ⁽¹⁾; cependant, il y a des exceptions à cette règle (Sipunculidés); à ce point de vue nos résultats sur la chromopexie peuvent être comparés à ceux de FENN, qui montre que l'action favorisante exercée par le sérum sur la phagocytose n'est nullement constante, ni régulière.

La phagocytose et la chromopexie chevauchent : il existe des substances, dont l'accumulation peut être envisagée aussi bien comme un phénomène chromopexique que comme un phénomène phagocytaire (encre de Chine) : si l'accumulation de cette substance peut être envisagée dans la majorité des cas comme traduisant un phénomène phagocytaire, GÉRARD et CORDIER ⁽³²⁾ montrent que certains échantillons d'encre de Chine se comportent comme les colorants colloïdaux — traversent l'épithélium glomérulaire et s'accumulent dans les cellules des tubes contournés. L'exagération de la fonction chromopexique conduit généralement à l'apparition de la fonction phagocytaire ⁽²⁾; cette intensification peut être due à un changement d'état cellulaire (transformation d'un fibrocyte en macrophage) ⁽³⁾ ou à une fluidification du cytoplasme sous l'action d'agents divers (RÖSSLE, 07; KUNIO SATO, 29, 30; Millie von MÖLLENDORFF, 23). Ceci montre bien que le calibre des particules ingérées est déterminé avant tout par la limite de déformation du cytoplasme dans les conditions données. On peut alors envisager la chromopexie comme un cas limite de phagocytose nécessitant un minimum de déformation au niveau de la membrane cellulaire.

Les caractères communs ne s'arrêtent pas là. La chromopexie (HERTZ, 22), aussi bien que la phagocytose (HAMBURGER, 12), est sensible à l'action des narcotiques. L'influence de la température

⁽¹⁾ La présence de sérocolloïdes peut agir aussi sur les caractères physiques du protoplasma superficiel. Ainsi, FRIEDMANN et SCHÖNFELD ⁽¹⁷⁾ montrent que dans certains cas, elle est indispensable à la réalisation du mouvement amiboïde.

⁽²⁾ Quelle est la valeur de la limite tranchée que BRATIANU et GUERRIERO tracent entre la fonction colloïdopexique et la fonction phagocytaire ? On peut se demander si les différences que ces auteurs signalent ne tiennent pas avant tout à la nature différente des substances utilisées d'une part pour les expériences de colloïdopexie, d'autre part pour celles de phagocytose.

⁽³⁾ Actuellement, la possibilité de cette transformation peut être considérée comme un fait acquis, ainsi que le démontrent les travaux de PAPPENHEIM, MARCHAND, A. FISCHER, CARREL, de W. et M. von MÖLLENDORFF ⁽²⁶⁾, d'EPHRUSSI et HUGUES ⁽³⁰⁾.

sur la chromopexie, que nous avons constatée dans le cas des leucocytes de Sipunculidés (p. 216), peut être comparée à l'influence de la température sur la phagocytose, telle que cette influence a été définie par MADSEN, WULFF et WATABIKI.

Destinée des suspensions et des colorants acides à l'intérieur des cellules.

Un parallélisme étroit existe entre le comportement intracellulaire des suspensions et des solutions de colorants acides.

Une particule phagocytée peut provoquer une « réaction vacuolaire » et deviendra alors le centre de formation d'une gastriole. Ou bien la réaction vacuolaire n'aura pas lieu et la particule restera entourée simplement de sa progastriole.

Les colorants acides eux aussi subissent, suivant les cas, deux destinées différentes : ou bien ils s'accumulent dans le vacuome ou « appareil de ségrégation », ou bien ils provoquent la néoformation de vacuoles spéciales, indépendantes de ce dernier.

Prenons le cas d'un choanocyte d'Éponge. La phagocytose d'un grain d'amidon de riz provoque la confluence de plusieurs éléments du vacuome autour de ce grain. Un grain de carmin, plus petit, peut être englobé par une seule vacuole endogène. Et même, la fonction de cette vacuole n'étant souvent pas saturée, plusieurs grains de carmin peuvent s'y loger. Enfin (à la limite entre la phagocytose et la chromopexie) de nombreux grains d'encre de Chine se concentrent dans le même élément du vacuome. Nous assistons alors à la « coloration du vacuome par l'encre de Chine » (RUMIANTZEFF, 28; KEDROWSKI, 31a; TCHÉU-TAÏ-CHUIN, 30) qui est un cas particulier de chromopexie. KEDROWSKI insiste sur le parallélisme étroit qui existe entre le comportement des Opalines vis-à-vis de l'encre de Chine et des colorants acides. Une série de cas intermédiaires relie donc le phénomène de pénétration des vacuoles endogènes dans les progastrioles (Paramécies) et la concentration des colorants acides dans l'appareil de ségrégation (Opalines).

En l'absence de réaction vacuolaire, les particules phagocytées peuvent s'agglutiner dans le cytoplasme en s'entourant d'une progastriole commune (LEWIS et LEWIS, 25).

Il y a ici un autre parallélisme étroit entre l'agglutination des suspensions et la floculation intracellulaire des colorants. La taille

des progastrioles peut varier dans de larges mesures : nettement visibles dans certains cas, elles n'atteignent pas — chez les choanocytes — de dimensions microscopiques ; les particules paraissent alors, nous l'avons dit, logées à même le cytoplasme. De même, on connaît pour les colorants acides, tantôt des cas de « floculation intracytoplasmique » (EVANS et SCOTT, 20 ; GLAZUNOW, 28-29 ; CAPPELL, 29 ; BRATIANU et LLOMBART, 29 ; DRACH, 30), tantôt des cas de néoformation de vacuoles (HERZFELD, 17 ; VON MÖLLENDORFF, 20 ; EVANS et SCOTT, *loc. cit.*). On peut envisager l'existence d'une réaction vacuolaire dans la phagocytose comme correspondant à une chromopexie dans l'appareil de ségrégation ; la non-intervention du vacuome — à une chromopexie dans des vacuoles néoformées.

Les aspects différents du comportement intracellulaire des suspensions (bactéries, lait, hématies, amidon, carmin, encre de Chine), des colloïdes (collargol, certains colorants acides) et des sémicolloïdes (d'autres colorants acides), peuvent donc être représentés comme les valeurs successives d'une même fonction continue ayant — pour variable principale — la taille des particules étrangères.

En vertu de cette continuité, on peut prévoir une chromopexie dans des vacuoles néoformées chez les cellules présentant une réaction vacuolaire élective. C'est (p. 184) le cas des amibocytes de Siponcle : à une absence de réaction vacuolaire autour de grains de carmin, correspond une chromopexie du carminate de Li dans des vacuoles néoformées. Inversement, la chromopexie de nombreuses substances au niveau de l'appareil de ségrégation ferait prévoir une réaction vacuolaire peu élective. Pourtant, si l'affinité du vacuome pour les progastrioles est sous la dépendance de plusieurs facteurs (charge électrique, « mouillabilité », viscosité du cytoplasme, etc.), dont certains varient avec la masse, d'autres avec la surface des éléments en jeu, l'importance relative de ces facteurs (pour une espèce cellulaire et une catégorie de particules données) variera elle-même en fonction de la taille de ces particules.

Conclusions.

Nous considérons que la pénétration des colorants acides qui donne lieu à la chromopexie sort du cadre des phénomènes de perméabilité cellulaire et se rattache à la phagocytose, étant donné

que cette pénétration implique une déformation du protoplasme superficiel.

Les facteurs électrique et capillaire de la phagocytose peuvent être transportés aux dimensions ultra-microscopiques.

La fonction phagocytaire empiète le plus souvent sur la fonction chromopexique.

Les deux phénomènes sont sensibles à la narcose et aux variations de température.

Au point de vue de la localisation des substances absorbées à l'intérieur des cellules, on trouve encore une continuité entre les deux processus.

Par ces conclusions nous ne croyons nullement apporter une solution du problème de la chromopexie. Nous voulons simplement délimiter nettement le cadre des recherches qui peuvent, à notre avis, conduire à cette solution.

IV. — HYPOTHÈSES RELATIVES A QUELQUES QUESTIONS DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

La nature du vacuome.

C'est DANGEARD qui a réuni les différentes catégories de vacuoles végétales sous le nom de « vacuome », mais c'est GUILLIERMOND qui a le premier dissocié le vacuome du chondriome et établi une limite tranchée entre ces deux systèmes.

Plusieurs auteurs tentèrent ensuite de transporter la notion de vacuome à la cellule animale. C'est à GUILLIERMOND et MANGENOT qu'appartient l'idée de rechercher dans les « corps de Golgi » de la cellule animale les homologues des vacuoles végétales. C'est à PARAT que revient le mérite d'avoir fait de cette idée une notion concrète. Pendant plusieurs années, PARAT a soutenu une lutte obstinée pour l'adoption de sa conception contre une opposition active ou passive, aussi bien en France qu'à l'étranger.

L'existence même du vacuome a été niée, puis son unité. A l'heure actuelle, l'existence des vacuoles animales, indépendamment

de tout phénomène de coloration, ne peut plus faire de doute ⁽¹⁾. Par contre, l'unité de la notion de « vacuome » ne se dégage pas directement de nos connaissances. Cela tient, en grande partie, à ce fait, que le vacuome est susceptible d'un grand polymorphisme et peut servir de lieu d'accumulation à des substances de nature très différente. Pour dégager l'unité du vacuome, il faut donc s'adresser, avant tout, à des cellules non spécialisées (cellules embryonnaires, méristèmes, mésenchymes). Encore plus que l'unité constitutionnelle du vacuome, son unité physiologique appartient aux problèmes actuels de la cytologie. Ce sont ces questions qui feront le sujet des pages suivantes.

Données actuelles sur la signification des caractères morphologiques du vacuome.

Colorations vitales. — Les facteurs les plus divers ont été invoqués pour expliquer l'accumulation des colorants vitaux basiques au niveau des granula et des vacuoles. L'hypothèse des « chimiocepteurs » spécifiques (EHRlich) n'a plus qu'un intérêt historique. La théorie d'une substance lipoidique acide (NIERENSTEIN, 20) ne rend pas compte des faits expérimentaux (MÖLLENDORFF, 20) ⁽²⁾.

Par contre la théorie « électro-chimique » de MÖLLENDORFF (floculation de deux colloïdes de signes inverses) s'est trouvée fructueuse. Jusqu'ici, elle est conforme aux résultats expérimentaux et se révèle d'une portée très générale. Elle paraît en outre suffisante pour rendre compte à elle seule de l'accumulation des colorants basiques dans de nombreux cas.

⁽¹⁾ C'est en connaissance de cause que nous ne tenons pas compte du dernier travail de BRONTÉ-GATENBY (1932. *Amer. J. Anatomy*, t. 51, p. 253).

⁽²⁾ Toutefois, il existe des cas, où la coloration des « granula » cellulaires semble répondre, non point au processus invoqué par MÖLLENDORFF, mais à celui de NIERENSTEIN ; c'est-à-dire, à une dissolution des colorants basiques dans des corps gras acides. Mais ces « granula » sont, alors, indépendants du vacuome. Nous ne citerons qu'un seul exemple, que nous avons étudié de près (VOLKONSKY, 29 ; TEISSIER et VOLKONSKY, 29) : c'est le cas des grains pigmentaires oxylipoidiques de l'Eponge *Clathrina* et d'une série d'Hydraires (*Sertularella*, *Aglaophenia*, etc.) (voir aussi Pl. VI, fig. 10). Il est manifeste qu'ici le pouvoir de concentration des colorants vitaux (pouvoir souvent très élevé) obéit à des facteurs très différents de ceux qui président à la coloration du vacuome.

Les travaux de ROBERTSON (08), HARVEY (11), MC CUTCHEON et LUCKÉ (24), d'IRWIN (27, 28, 29) montrent toute l'importance d'un autre facteur : de l'acidité relative du vacuome par rapport au milieu externe (c'est là, en somme, sous une forme toute nouvelle, l'ancienne « Reaktionstheorie » de BETHE : au signe près). Il semble que dans certains cas ce facteur puisse expliquer à lui seul d'une façon suffisante l'accumulation des colorants basiques (modèle de IRWIN, 28, pour *Nitella*). Cependant, c'est là précisément un cas de vacuoles évoluées à caractères particuliers. Dans le cas des vacuoles jeunes (ou des granula), il faudrait attribuer au vacuome une acidité beaucoup plus grande que ne le permettent les résultats des mesures colorimétriques. Par contre, les expériences de MC CUTCHEON et LUCKÉ (*loc. cit.*) montrent l'importance réelle, mais non exclusive, du facteur *acidité* précisément dans un cas de vacuoles morphologiquement non spécialisées. KEDROWSKI (31) signale lui aussi des variations dans le pouvoir de concentration du vacuome vis-à-vis des colorants basiques en fonction de son acidité. Dans le cas des gastroles, nous avons vu également que l'apparition d'une réaction alcaline provoquait une diminution — *mais non point une suppression* — de la coloration (voir plus haut, p. 182).

Les résultats de CHAMBERS (28) sont difficilement conciliables avec l'idée d'un rôle exclusif du facteur *acidité*.

Toutes ces données n'excluent donc pas l'importance du facteur « électro-chimique », qu'il est, d'ailleurs, nécessaire d'invoquer pour expliquer la floculation endovacuolaire des colorants. Or cette floculation est l'un des phénomènes les plus caractéristiques des colorations vitales.

Dans l'idée de von MÖLLENDORFF, l'état colloïdal et le signe électrique seraient les seuls caractères communs à toutes les substances constitutives des granula. Les colorants acides, en provoquant la formation de « granula » de colorant, joueraient exactement le même rôle que les substances constitutives des granula normaux. Enfin, la coloration d'enclaves préexistantes correspondrait à la formation de « granula mixtes » (*Mischgranula*), constitués d'un mélange de substances vacuolaires incolores et de colorant. La formation normale des granula dans une cellule serait une étape dans son métabolisme et la constance numérique de ces granula ne serait qu'un indice de la constance du métabolisme cellulaire.

En somme, les « granula » se formeraient aux dépens de sub-

stances trophiques très différentes, ne possédant de commun que leur état physique.

C'est ici l'un des aspects de la notion « d'appareil de ségrégation ».

On peut se demander si von MÖLLENDORFF a saisi la véritable signification des substances constitutives du vacuome.

Chez un grand nombre de Protistes et de Végétaux inférieurs, la colorabilité du vacuome est liée à la présence de substances mieux définies, réunies sous le nom de métachromatine (GUILLIERMOND) (= corpuscules polaires de BABES = volutine de A. MEYER, = mucosomes d'ALEXIEFF). Si la nature chimique de la métachromatine ne peut être considérée comme définitivement établie (voir WERMEL et ZASSUCHIN, 29), du moins constitue-t-elle une entité au point de vue cytologique.

Chez un grand nombre de Végétaux supérieurs, la présence de tanin joue un rôle capital dans l'affinité du vacuome pour les colorants vitaux.

Imprégnations métalliques.

L'argyrophilie et l'osmiophilie du vacuome a été suffisamment démontrée de différents côtés. Nous renverrons pour la bibliographie au travail de GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL (33, *bibliogr.*) pour les Métaphytes, de PARAT (28) pour les Métazoaires, de R. P. HALL (30_b) pour les Protistes.

Quelle est l'origine de cette propriété du vacuome ?

Mis à part le cas des vacuoles végétales spécialisées, où c'est la présence de tanins et de divers composés phénoliques cristalloïdes qui semble jouer un rôle prépondérant, très peu de données existent pour répondre à cette question. Ce ne sont sûrement pas les lipoïdes qui entrent en jeu (PARAT). PARAT (28, p. 321 et suivantes) fait intervenir un facteur purement physique (précipitations aux interfaces) sans nier, toutefois, l'importance que peut avoir la nature même des substances vacuolaires.

Confrontation des résultats des colorations vitales et des imprégnations métalliques. — Bien d'autres corps que les éléments du vacuome peuvent être imprégnés par l'Argent et l'Osmium. Nous en avons parlé plus haut (p. 154). Dans chacun des cas, l'imprégnation semble résulter d'un mécanisme légèrement différent. En somme, les imprégnations métalliques peuvent donner lieu à autant

d'images différentes qu'il peut y avoir de moyens différents pour réduire l'Argent de son nitrate et l'Osmium de son tétr oxyde. Mais le plus souvent c'est le vacuome qui est imprégné. Dans ce cas la chose la plus frappante, c'est que l'on puisse obtenir par imprégnation métallique des images exactement superposables à celles obtenues sur le vivant à l'aide du rouge neutre. Les éléments sanguins des Sipunculidés nous en offrent un exemple :

Le contenu colloïdal des vacuoles des érythrocytes floccule sous l'action du rouge neutré. C'est avant tout ce contenu (flocculé par les fixateurs) qui s'imprègne par les métaux.

Les vacuoles des amibocytes, quand elles augmentent de taille, perdent, dans une certaine mesure, leur affinité pour le rouge neutre. Leur argyrophilie et leur osmiophilie diminuent parallèlement (Pl. V, fig. 12 ; Pl. VIII, fig. 3).

Au cours de la formation des gastrioles, les images obtenues à l'aide du rouge neutre, d'une part, des métaux réduits de l'autre, sont strictement superposables (Pl. VI, fig. 1, 4 ; Pl. VIII, fig. 1-10).

Une exception : les grains spécifiques des cellules sphéruleuses acidophiles du Phascolosome, vivement colorés par le rouge neutre, ne sont pas imprégnés par les métaux. Mais ici les teintes prises dans les colorations vitales dénotent une forte acidité des grains spécifiques ; il semble que dans ce cas ce soit le facteur *acidité* et non le facteur électro-chimique qui joue un rôle primordial dans la concentration des colorants vitaux.

De tout ce qui précède, il se dégage une impression très nette : en dehors des cas particuliers où c'est la forte acidité des vacuoles qui est responsable de la coloration, l'affinité des vacuoles pour les colorants vitaux, d'une part, l'argyrophilie et l'osmiophilie, de l'autre, sont liées beaucoup moins à un *état physique* des vacuoles, qu'à la *nature des substances* qui les constituent ⁽¹⁾ Et ce sont les *mêmes substances* qui sont responsables aussi bien de la fixation des colorants vitaux que de celle des métaux.

Cette *hypothèse*, nous allons nous efforcer de la justifier dans les passages qui suivent.

(1) Pour J. SPEC (31) l'affinité des « granula » pour les colorants vitaux serait liée à la nature des substances constitutives de ces « granula » : la coloration diffuse du cytoplasme des cellules altérées devrait être interprétée comme le résultat de la diffusion de ces substances ; une fois extraites de la cellule et mises en solution aqueuse, ces substances conserveraient toujours leur affinité pour les colorants.

Dans les vacuoles à métachromatine, on se rend bien compte que c'est une même substance qui fixe les colorants basiques sur le vivant et après fixation et s'imprègne par les métaux (voir, par ex., VOLKONSKY, 30c). En dehors des vacuoles à métachromatine, les vacuoles basophiles après fixation sont beaucoup plus répandues qu'on ne le croit d'habitude. La grande difficulté ne consiste pas à les colorer, mais à fixer leur contenu *in situ* : pour peu que la fixation soit défectueuse, la substance basophile diffuse à l'extérieur des vacuoles et imprègne le cytoplasme environnant (nous avons constaté ce phénomène dans les choanocytes d'Éponges, dans des Flagellés, etc.).

Dans un grand nombre de Végétaux inférieurs (Bactéries, Algues, Champignons) (GUILLIERMOND, 10 ; ALEXEIEFF, 24), de Protistes (Rhizopodes, Flagellés), d'Animaux inférieurs (Spongiaires) (VOLKONSKY), les substances constitutives du vacuome possèdent après coloration vitale, après fixation et coloration, enfin après imprégnation métallique, des caractères au moins aussi bien définis et aussi constants que le chondriome.

Chez les Végétaux supérieurs, les globoïdes des grains d'aleurone possèdent une série de caractères tinctoriaux de la métachromatine. BEAUVERIE et GUILLIERMOND (08) montrent que ces caractères peuvent être attribués à des protéines contenues dans le globoïde.

Chez les Animaux supérieurs, il existe plusieurs catégories de substances endovacuolaires qui se rapprochent de la métachromatine ; c'est le cas, par exemple, des grains des Mastzellen. La sécrétion des cellules muqueuses se rapproche, par ses caractères tinctoriaux, des substances endovacuolaires des choanocytes et aussi de la métachromatine ; notons que, d'après WERMEL et ZAS-SUCHIN (29), la métachromatine serait un glycoprotéide.

Mais, si le vacuome doit l'ensemble de ses caractères cytologiques à sa constitution, quelle est la nature des substances qui le constituent ?

Hypothèse du « vacuome-siège de ferments ».

Dans les glandes digestives des Métazoaires (glandes salivaires, pancréas), les ferments sécrétés sont d'origine endovacuolaire.

Dans les Protozoaires à nutrition particulière et dans les cellules

phagocytaires, le vacuome apparaît également comme le siège de ferments digestifs.

Enfin, parmi les Végétaux, *Drosera* offre un exemple de cellules où la sécrétion de ferments apparaît liée à la sortie de substances vacuolaires colorables par le rouge neutre (KEDROWSKI, 31_b).

Ces données conduisent KEDROWSKI (32) à envisager explicitement l'hypothèse générale de la nature enzymatique des substances constitutives du vacuome (die « Fermenthypothese des Vacuoms »).

Pour KEDROWSKI, c'est à leur teneur en ferments protéolytiques qu'il faudrait attribuer l'affinité des éléments du vacuome pour les colorants vitaux basiques, pour l'Argent et pour l'Osmium. Il se trouve, en effet, que différents ferments protéolytiques possèdent *in vitro* les propriétés requises.

L'action précipitante exercée par la safranine sur la trypsine est connue de longue date (ROBERTSON, 05). HOLZBERG (13) utilise cette réaction pour l'isolement du ferment. MARSTON (23) montre que cette réaction de précipitation s'étend : d'une part, à un grand nombre de ferments protéolytiques (pepsine, érepsine, papaïne) — mais ni à l'amylase, ni à la lipase ; d'autre part, à tous les colorants aziniques (violet neutre, rouge neutre, safranine, bleu d'indamine, vert Janus). Cette constatation est le point de départ d'une théorie nouvelle : les ferments se fixeraient sur les bases aziniques par leurs groupements actifs — comme ils se fixeraient sur les groupements dicéto-pipéraziques des protéines. La précipitation des ferments protéolytiques par les colorants aziniques serait alors une véritable réaction chimique hautement spécifique et d'un grand intérêt aussi bien pour la chimie des diastases que pour la cytologie. D'un autre côté, MARSTON (26) observe qu'en présence d'une émulsion de lécithine, l'activité protéosynthétique de la trypsine est presque doublée : la surface de la lécithine adsorberait les produits de dégradation des protéines et servirait de surface catalytique. ROBERTSON (26) transporte ce schéma au chondriome : la surface des mitochondries servirait de lieu de condensation pour les acides aminés et serait le siège de la protéosynthèse. La coloration mitochondriale au vert Janus posséderait ainsi la valeur d'une véritable réaction cytochimique des protéases.

Notons, tout d'abord, que la théorie de MARSTON-ROBERTSON peut être entièrement transportée au vacuome : parmi les colorants aziniques, la safranine n'est pas un colorant vital ; le violet neutre, le rouge neutre, le bleu de toluyène, le vert d'isamine sont des colorants du vacuome ; le vert Janus lui-même n'est pas un colorant spécifique : si, dans certaines conditions, il colore le chondriome — dans d'autres, c'est le vacuome et ses produits d'élaboration qui sont colorés ; les cas relatés se rapportent précisément aux cellules sécrétrices des glandes digestives (EPSTEIN et ROSENTHAL, 24 ; PARAT, 28 ; HIRSCH, 31, 32). Les autres colorants vitaux du vacuome sont presque tous de proches parents des diazines (oxazines, thiazines). Au contraire, parmi les colorants du chondriome, à côté des azines (vert Janus et noir Janus), on peut citer un dérivé du triphénylméthane — le dahlia. Enfin, l'interface vacuome/cytoplasme (peut-être à un degré moindre que l'interface chondriome/cytoplasme) peut servir, elle aussi, de surface catalytique.

Cependant, la théorie chimique de MARSTON paraît tomber en désuétude aux yeux des diastasologues. A la suite, surtout, des travaux de WILLSTÄTTER et de ses élèves, on admet actuellement que les ferments (ou catalyseurs biochimiques) sont constitués par une fraction active fixée sur un support colloïdal (WILLSTÄTTER, 28, *bibliogr.*). RICHARDSON et CANNAN (29) montrent que la précipitation de la trypsine par la safranine ne bloque pas l'action diastasique ; il est donc fort probable que l'action des colorants porte non point sur le groupement actif du ferment, mais sur le support colloïdal. La même question se pose pour les autres protéases. Du même coup la théorie de MARSTON perdrait sa valeur au point de vue chimique. Il n'en reste pas moins vrai que, même si l'action des azines porte sur le support colloïdal des ferments, cette action est suffisamment spécifique pour que l'on puisse, à partir de la pepsine commerciale, obtenir un précipité contenant 65 o/o de l'activité pepsique, et ne représentant plus que 3 o/o du poids de la pepsine mise en œuvre ; d'après FORBES (27), ce procédé donnerait des résultats supérieurs à celui de WILLSTÄTTER (cité d'après Mlle LE BRETON, 31). D'autre part, ces supports colloïdaux doivent être très intimement liés aux groupements actifs, étant donné que la protéinase et la carboxy-polypeptidase, isolées par les méthodes de WILLSTÄTTER et de WALDSCHMIDT-LEITZ (adsorption sur l'alumine et élution répétées), précipitent encore parfaitement par la safranine (Mlle LE BRETON, *loc. cit.*). La théorie de MARSTON-ROBERTSON conserve donc une grande partie de sa valeur au point de vue cytochimique.

Les expériences de KEDROWSKI (*loc. cit.*) montrent — d'une part — que les colorants basiques présentent une affinité marquée pour les préparations commerciales des protéases, d'autre part — que, parmi les colorants étudiés, ce sont les colorants vitaux qui jouissent de cette propriété à un degré plus élevé ; enfin, les solutions des protéases jouissent d'un pouvoir réducteur élevé vis-à-vis du tétroxyde d'osmium.

On possède donc une série d'arguments en faveur de l'idée que les substances constitutives du vacuome, responsables des colorations vitales de l'imprégnation par l'Osmium, sont les supports colloïdaux de ferments protéolytiques. Chacun de ces arguments, isolé, n'est pas probant, mais leur ensemble crée une forte présomption en faveur de l'hypothèse du « vacuome-siège de ferments ». Si cette hypothèse était vérifiée, l'unité morphologique du vacuome constituerait une preuve tangible de son unité physiologique et constitutionnelle.

Notons que ce sont précisément les vacuoles où la présence de ferments est indiquée par voie cyto-physiologique (Infusoires, cellules phagocytaires) qui sont douées au plus haut degré de caractères morphologiques du vacuome (vis-à-vis des colorants vitaux et des imprégnations métalliques). Dans ces vacuoles il est difficile d'admettre que l'accumulation de ferments soit un phénomène secondaire.

Un cas semble à première vue en contradiction avec l'hypothèse

enzymatique du vacuome. C'est le cas du vacuome à métachromatine. Nous sommes là encore en présence d'une substance douée au plus haut degré d'une affinité pour les colorants vitaux basiques et les métaux. On a bien admis à un moment donné (HENNEBERG, ALEXEIEFF) que la métachromatine était une substance de nature enzymatique, mais cette interprétation a été rejetée par la suite. On admet actuellement (A. MEYER, 04; GUILLIERMOND, 10; REICHENOW, 09; VAN HERWERDEN, 17; etc.) que la métachromatine (ou volutine) est une substance de réserve. Mais, encore une fois, si les caractères cytologiques des substances vacuolaires appartiennent aux supports colloïdaux des ferments, la quantité de la fraction active n'est pas forcément proportionnelle à la quantité de la fraction colloïdale. Il n'en reste pas moins vrai que le vacuome à métachromatine est un type de vacuome particulièrement répandu parmi les organismes doués d'un pouvoir fermentatif élevé (bactéries, levures, moisissures). D'un autre côté, le vacuome phagocytaire (porte-ferments) lui-même se rapproche dans un grand nombre de cas (Amibes, Spongiaires) du vacuome à métachromatine (forte basophilie avec métachromasie après fixation).

On pourrait encore rechercher une démonstration de la nature enzymatique des substances vacuolaires dans l'action pharmacodynamique des colorants vitaux basiques. En effet, si l'action des colorants du vacuome porte sur les ferments protéolytiques, il faudrait s'attendre à ce que la coloration vitale ait une répercussion sur la fonction digestive des organismes. Malheureusement, chez les animaux supérieurs, où cette question est le mieux connue, l'activité pharmacodynamique des colorants vitaux (comme le bleu de méthylène) se complique d'une action sur le système para-sympathique. Dans le cas des organismes inférieurs, les quelques rares données que nous possédons sont favorables à l'hypothèse diastasique (KÆRING, 30). La toxicité des colorants du vacuome vis-à-vis des diastases, autres que les protéases, est très variable : QUASTEL et WHEATLY (31) trouvent que seuls les colorants basiques (bleu de toluidine, bleu de méthylène) exercent une forte action toxique sur les oxydases du colibacille et du muscle de Grenouille. Par contre les colorants vitaux basiques (par opposition à tous les autres) sont très peu toxiques ou parfaitement inoffensifs vis-à-vis de la fumarase de différents tissus et du *B. coli*.

En résumé, si l'hypothèse du vacuome — siège de ferments

échappe à l'heure qu'il est à une démonstration directe générale, cela tient peut-être uniquement à l'insuffisance de nos possibilités techniques. Un grand nombre d'indications indirectes sont favorables à cette hypothèse. Les vacuoles où la présence de ferments semble démontrée par voie physiologique possèdent les caractères morphologiques du vacuome à un degré très élevé ⁽¹⁾.

Dans quelle mesure l'hypothèse enzymatique peut-elle être appliquée en vacuome en général ? C'est à la lumière de cette hypothèse que nous allons passer en revue les principaux types de vacuome.

Le vacuome de réserve.

Les exemples sont extrêmement nombreux de vacuoles servant de lieux de condensation pour les substances de réserve. A ce point de vue nous distinguerons deux cas bien différents : celui d'une accumulation de cristalloïdes (hydrates de carbone, acides aminés) dans les vacuoles fortement hydratées des cellules de Métaphytes et celui d'une condensation endovacuolaire de protéines, suivie d'une déshydratation des vacuoles. Dans cette deuxième catégorie, il faut citer au premier plan le cas du grain d'aleurone (chez les Végétaux supérieurs) et de la plaquette vitelline (chez les Animaux) ; celui, également, des grains protéiques endovacuolaires des Phytoflagellés (DANGEARD et DANGEARD, 24 ; VOLKONSKY, 30_c).

Les grains de réserve endovacuolaires. — Dans un grand nombre de cas, le vacuome devient un lieu de ségrégation et de condensation de substances colloïdales (essentiellement protéiques).

L'origine de ces substances peut être très différente : elles sont soit purement exogènes, soit exogènes, mais plus ou moins profondément transformées au cours de leur passage à travers le cytoplasme, soit enfin d'origine purement synthétique. Nous citerons, d'abord, le cas de *Polytoma uvella* qui effectue la synthèse de grains protéiques endovacuolaires aux dépens d'acide acétique et d'une source d'Azote ammoniacal. Nous avons montré que, si certaines réactions histochimiques du leucoplaste de *Polytoma*

⁽¹⁾ Nous avons dit plus haut qu'on pouvait obtenir un démasquage électif des histolipoides périvacuolaires par voie autolytique. Cette constatation est en accord avec l'idée que le vacuome serait le siège de ferments protéolytiques. Le démasquage autolytique serait alors comparable à la lipophanérose par digestion artificielle, de CIACCIO.

variaient en fonction de la composition du milieu, les protéines endovacuolaires conservaient, elles, une composition constante ; les seules variations que ces protéines peuvent subir sont d'ordre quantitatif. Il est donc vraisemblable :

1, que la synthèse des acides aminés s'effectue en dehors des vacuoles ;

2, que les substances azotées arrivent dans les vacuoles sous forme d'acides aminés ou de polypeptides (puisqu'on active la protéosynthèse vacuolaire en fournissant l'Azote sous forme de peptones).

Dans la grande majorité des cas (aleurone des graines, vitellus des œufs ; enclaves protéiques des cellules nourricières, des Grégaires), il est impossible actuellement d'évaluer la part qui revient à la cellule accumulatrice dans la synthèse de ses substances de réserve.

Le cas des Opalines se prête mieux à une étude de ce genre. KEDROWSKI (*31a*) trouve ici un balancement entre les phénomènes de ségrégation et ceux de synthèse, suivant l'état de dégradation plus ou moins poussée de l'aliment azoté.

Le vacuome nous apparaît, en somme, à la fois comme un lieu de ségrégation et un lieu de synthèses, l'importance relative de chacun de ces phénomènes étant déterminée par la forme sous laquelle les aliments sont absorbés par la cellule.

Les caractères de ces substances secondairement accumulées les distinguent des substances constitutives initiales des vacuoles.

L'accumulation des protéines de réserve dans le vacuome est presque toujours accompagnée d'une atténuation progressive des caractères spécifiques de ce dernier (mis à part le cas de la métachromatine dont il a été question plus haut) et ceci à un moment, où le fait de sa déshydratation ne peut pas toujours être raisonnablement invoqué. L'affinité du vacuome pour les colorants vitaux basiques diminue et, parallèlement, diminuent son argyrophilie et son osmiophilie. Ici encore les résultats des colorations vitales et des imprégnations métalliques sont strictement superposables. Les caractères du vacuome paraissent donc, là aussi, étroitement liés à la présence de certaines substances, et ces substances sont distinctes des protéines de réserve qui s'y accumulent secondairement.

Peut-on étendre la notion de « vacuome-siège de ferments » aux vacuoles à grains de réserve ? Cela reviendrait à admettre la pré-

sence de ferments protéolytiques dans les vacuoles où s'effectue la condensation de vitellus ou d'aleurone à partir d'albumoses ou de protéines susceptibles de traverser les parois des vacuoles ⁽¹⁾. Il s'en suit que les mêmes ferments seraient présents dans les vacuoles au moment de la condensation et à celui de la digestion des réserves protéiques. Or, on sait que les actions diastasiques suivent la loi d'action de masse et que les mêmes diastases peuvent exercer une action tantôt protéolytique, tantôt protéosynthétique suivant la concentration plus ou moins grande des produits de leur activité (ROBERTSON, 07; TAILOR, 07; ROBERTSON et GAY, 12; MARSTON, 26). S'il en est ainsi, les mêmes ferments effectueraient tantôt la condensation, tantôt la digestion des protéines de réserve endovacuo- laires, suivant l'état d'hydratation plus ou moins grand du vacuome ⁽²⁾.

Envisagé à ce point de vue, le cas du vacuome de réserve, loin de s'opposer à la notion de « vacuome-porte-ferments », n'en serait qu'un prolongement et une généralisation.

Les vacuoles hydratées des Végétaux.

Le vacuome hydraté des cellules végétales est un lieu d'accumulation de substances « deutoplasmiques » très variées (sels, glucides, tanins, composés phénoliques, alcaloïdes) de réserve ou d'excrétion (GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL, 32, *bibliogr.*). Les données de GICKLHORN (31) indiquent, dans certains cas, l'existence probable de lipoides. Certains corps (comme les alcaloïdes) s'y

⁽¹⁾ Il faut tenir compte d'une cause d'erreur possible : il suffirait que les protéines de réserve soient moins solubles dans le suc vacuolaire que dans le cytoplasme (pour des questions de pH, de concentration en électrolytes) pour que ces protéines puissent venir s'y condenser en vertu d'un phénomène purement physique, en l'absence de tout processus de synthèse; en effet, nous ne savons pas quel est le degré de perméabilité de la membrane vacuolaire. Toutefois, l'aspect des phénomènes de digestion des réserves — par exemple, au cours de la germination des graines — quand la protéolyse est accompagnée d'une accumulation d'acides aminés au sein des vacuoles, parle en faveur de l'idée que la lyse, aussi bien que la synthèse des protéines de réserve, prend place au sein même des vacuoles.

⁽²⁾ V. KERING (30) et B. KEDROWSKI (32) ont déjà formulé l'hypothèse d'une réversibilité de l'action diastasique des ferments vacuolaires en fonction de l'état d'hydratation du vacuome.

accumulent en vertu du principe même qui préside à l'accumulation des colorants basiques (l'analogie de comportement entre ces deux groupes de corps est indiquée par les travaux de BORNSTEIN et RÜTHER, 25). Ici, l'unité constitutionnelle du vacuome est masquée au plus haut degré par l'accumulation de substances diverses ; et, chose plus grave, la colorabilité vitale elle-même peut souvent s'expliquer en grande partie soit par une forte acidité du suc cellulaire, soit par la présence de substances comme les tanins. Remarquons, cependant, que l'opinion de ZIRCKLE (32), qui attribue aux tanins un rôle très général dans la coloration vitale, comporte une exagération manifeste : la présence de tanins n'est nullement un cas général ; elle apparaît toujours comme le résultat d'une accumulation secondaire.

En dehors de tous ces corps secondairement accumulés, les éléments vacuolaires les plus jeunes contiennent des substances colloïdales de nature indéterminée, à la présence desquelles le vacuome doit ses caractères spécifiques. D'après GUILLIERMOND, l'une de ces substances serait, dans certains cas, une protéine soluble dans l'alcool (une prolamine?). C'est dans ces éléments vacuolaires jeunes qu'on peut rechercher une démonstration de la constitution spécifique du vacuome.

Remarquons que les vacuoles des cellules glandulaires de *Drosophyllum* et de *Drosera* appartiennent précisément au type des vacuoles hydratées. Chez *Drosophyllum*, QUINTANILHA (26) observe que le vacuome polarisé des glandes digestives sessiles, finement réticulé à l'état de repos, se résoud en une série de vacuoles isolées au moment de la digestion extracellulaire ; l'origine de la sécrétion diastasique serait ici la même que dans les cellules pancréatiques des animaux. C'est dans le vacuome que prendrait place la deuxième étape (intracellulaire) de la protéolyse. La digestion d'insectes pigmentés conduit à une accumulation de la mélanine dans les vacuoles. HOMÈS (29) arrive à une conclusion analogue en ce qui concerne *Drosera*. Par contre, pour MANGENOT (29), cette « aggrégation » du vacuome ne traduit qu'un passage de substances à travers le cytoplasme. Chez *Drosera*, KEDROWSKI (31b) montre que la sécrétion de ferments digestifs par ces cellules est liée à la sécrétion des substances vacuolaires colorables par le rouge neutre.

Conclusions.

En résumé, l'ensemble des faits d'ordre cytologique et cytophysiologique paraît en accord parfait avec l'hypothèse diastasique du vacuome. A la lumière de cette hypothèse, on pourra chercher une démonstration de l'unité physiologique et constitutionnelle initiales des éléments vacuolaires dans les résultats mêmes des colorations vitales (ce qui est une ancienne idée de FISCHER, 08), et si les chimistes veulent bien reconnaître une certaine valeur de spécificité à la réaction entre les colorants aziniques et les protéases, — qu'il soit donc permis aux cytologistes de tirer parti de cet argument en l'appliquant au cas du vacuome.

***Le vacuome à la lumière de la théorie électrostatique
des colorations.***

Jusqu'ici nous avons parlé de « colloïdes de signe contraire à celui des colorants basiques » etc., sans préciser le sens de ces signes électriques. Ceci pour ne point lier nos hypothèses à une conception électrostatique elle-même en partie problématique. Mais à la fin de ce chapitre, nous examinerons la théorie « électrochimique » de MÖLLENDORFF, nos données sur la chromopexie etc., à la lumière des théories actuelles sur les colorants et les colorations, en particulier de la théorie de KELLER (voir KELLER, 32, *bibliogr.*).

En vue d'une synthèse concise nous réunirons des documents disséminés dans la bibliographie en tâchant de réduire au minimum l'apport d'interprétations personnelles.

Les colorants sont des substances organiques à grosses molécules, possédant une fonction acide ou basique très faibles, salifiée par un radical minéral.

La dissolution dans l'eau provoque une dissociation plus ou moins grande du colorant. Une solution aqueuse contiendra donc :

- 1, une fraction de colorant à l'état de sel non dissocié ;
- 2, une fraction de colorant à l'état de base ou d'acide libres et non dissociés ;
- 3, une fraction du radical minéral (acide ou base) fortement dissocié.

La partie organique non dissociée du colorant (acide ou base

libre) est beaucoup moins soluble dans l'eau que les sels correspondants, et tend à se polymériser (PELET-JOLIVET, 10 ; BLITZ, 10 ; SCHULEMANN, 17 ; OSTWALD, 19). L'existence de cette fraction peu dispersée confère aux solutions de colorants certaines propriétés de sols colloïdaux : floculation (MÖLLENDORFF, 20, *bibliogr.*), vieillissement (ZSIGMONDY, 24 ; NISTLER, 30). Bien entendu, l'importance de cette fraction polymérisée varie avec la nature des colorants ; en particulier, elle dépend du nombre de fonctions ionisables contenues par molécule de colorant (SCHULEMANN, 17). Il existe donc des colorants colloïdes, semi-colloïdes, moléculoïdes (BENOIST, GOLBLIN et KOPACZEWSKI, 29).

Dans une solution exempte d'électrolytes, la fraction non dissociée et polymérisée du colorant est forcément neutre électriquement ; ou, si une dissociation partielle est réalisée, cette fraction polymérisée ne peut posséder que le signe électrique de l'ion colorant. C'est pour cela qu'en l'absence de toute trace d'électrolytes les colorants basiques se comportent à l'électrophorèse comme des cations, les colorants acides — comme des anions (BETHE, 20 ; KELLER, 26). Mais il suffit d'introduire une faible quantité d'électrolytes pour que les conditions soient aussitôt modifiées (OSTWALD, 19) : il apparaît à l'électrophorèse une fraction électropositive dans les colorants acides, une fraction électronégative dans les colorants basiques (BETHE, KELLER, *loc. cit.*). C'est bien la fraction colloïdale du colorant qui change de signe (KELLER). Cette inversion de charge (de même que le passage du colorant à l'état colloïdal) peut être totale. Inversement, il existe des colorants (acides forts ou bases fortes) dont la charge n'est pas inversée par l'addition d'électrolytes. KELLER (21) attribue cette inversion de signe à un phénomène d'électrisation de surface. Mais, si dans le cas des colorants basiques, l'inversion de signe est conforme à la règle de COEHN, ceci n'est plus vrai dans le cas des colorants acides.

Les propriétés des colorants sont influencées par les ions complémentaires : c'est la nature des ions + qui détermine la floculation plus ou moins grande des colorants acides ; la nature des ions —, celle des colorants basiques (WERTHEIMER, 24). On peut expliquer ce phénomène en admettant que ce sont les cations qui sont adsorbés par la fraction non dissociée des colorants acides ; les

anions par la fraction correspondante des colorants basiques (¹).

L'expérience montre que c'est cette partie du colorant à signe électrique inversé qui est responsable des colorations. D'où cette importance des électrolytes pour les colorations qui justifie le paradoxe bien connu des histologistes que « c'est grâce aux impuretés que les colorants colorent ». La présence de sels peut, d'ailleurs, exercer une action plus complexe et l'aspect des colorations varie avec la nature des électrolytes présents (KELLER, 29b).

Dans des conditions favorables, le signe électrique de la partie colorante du colorant joue un rôle capital dans la coloration, et les résultats obtenus avec les colorants acides sont alors complémentaires de ceux obtenus avec les colorants basiques : les premiers colorent les cathodes, les deuxièmes — les anodes ; *c'est là le point capital de la théorie de Keller*. Ce point a été vérifié par des expériences de cataphorèse *in vitro* et par des mesures micro-électrométriques (UMRATH, 30) et peut être considéré comme un fait acquis.

Mais, dans des conditions différentes (en particulier, avec des concentrations de colorants plus élevées), on obtient des « surcolorations » non-électives, où l'adsorption du colorant peut aller à l'encontre du facteur électrostatique ; ce fait est également bien connu de tous les histologistes.

Cette adsorption se fait à la faveur d'affinités sortant du domaine de neutralisation des charges électriques (« affinités physico-chimiques » de GURWITSCH, 15). L'affinité « des semblables pour les semblables » (HARKINS) fait partie, pour LANGMUIR (17), de la classe des « valences secondaires ». La théorie de LANGMUIR, basée sur l'hypothèse d'électrons statiques, ne peut plus être admise sous sa forme primitive ; nous conservons cependant dans cet exposé le terme de « valences secondaires », en spécifiant bien que par ce terme nous désignons les affinités entre groupements atomiques, responsables du fait qu'une molécule d'acide gras s'oriente à l'interface eau/benzène de telle façon que son groupement carboxyle plonge dans l'eau, tandis que sa chaîne carbonée est située dans la phase organique. Les corps s'adsorbent suivant des lois de parenté grossièrement représentées par les valeurs des constantes diélectriques de ces corps (voir : HARKINS, 28, *bibliogr.* ; FÜRTH, 29b).

Mais alors, le « facteur électrique » (déterminé par les charges respectives du colorant et de l'adsorbent) n'intervient-il pas uniquement comme un obstacle (dans le cas de charges de même signe) ou comme un stimulant dans le cas de charges de signes contraires) pour que le rapprochement des molécules (de l'ordre de 10^{-7} - 10^{-8} cm.), nécessaire à la manifestation des

(¹) Que des substances non ionisées puissent garder un caractère acide ou basique (et présenter une affinité soit pour les ions +, soit pour les ions —) nous est montré par le curieux exemple des « chaînes de BEUTNER » (BEUTNER, 20, *bibliogr.*).

« valences secondaires », puisse être réalisé ? Autrement dit, un colorant serait attiré vers l'adsorbens par des forces d'attraction ionique ; une fois au contact de la surface adsorbante, il serait retenu par des affinités moléculaires plus intimes (« valences secondaires »). Ce schéma expliquerait pourquoi des colorations « électrostatiques » pures ne peuvent être réalisées qu'avec des solutions très diluées de colorants ⁽¹⁾.

Que les constantes diélectriques de l'adsorbens et du solvant jouent un rôle très important dans la fixation des colorants sur le substratum est bien indiqué par l'action décolorante qu'exercent des solvants à constante diélectrique basse (comme l'alcool et l'acétone). Cette action est difficile à concilier avec une théorie purement « électrostatique » (basée sur l'application de la règle de COHN), étant donné que ladite action s'adresse aussi bien aux colorants basiques qu'aux colorants acides ⁽²⁾.

Le « facteur électrostatique » nous apparaît d'autant plus comme un facteur auxiliaire, que les surfaces *positives* (« anodes » de Keller) ne le sont généralement que par rapport aux autres surfaces, mais pas par rapport au solvant (ce sont des anodes relatives), comme l'indique KARCZAG (27, bibliogr.) et comme KELLER (29a) le reconnaît lui-même. Dans les colorations « électrostatiques », les colorants basiques colorent donc généralement les points qui sont les *moins défavorables* (au point de vue électrique) à leur fixation. C'est peut-être là dedans que réside l'origine de cette dissymétrie dans l'action des colorants acides et des colorants basiques qui a suscité la création par W. et M. von MÖLLENDORFF (24) des notions de « coloration par imprégnation » (*Durchtränkungs-färbung*) et de « coloration par précipitation » (*Niederschlagsfärbung*) : les colorants basiques ne pourraient colorer qu'une fois amenés à un état voisin de la neutralité électrique et de la floculation.

Notons que l'électrisation de surface des corps au contact de l'eau serait due elle-même à un phénomène ionique et non électronique (adsorption d'ions H^+ ou OH^-), ainsi que le montrent les travaux de l'école de PERRIN (voir : CHOUCROUN, 23, bibliogr.).

Nous croyons que cette interprétation permet seule d'expliquer l'existence, à la fois, des colorations électives et de celles qui ne le sont pas.

La partie vraiment problématique de la théorie de KELLER commence avec l'application du « facteur électrostatique » à la colora-

(1) Dans sa critique de la théorie de KELLER, BEUTNER (31) indique que certaines parties d'une tige végétale peuvent être plus fortement colorées que d'autres aussi bien par les colorants acides que par les colorants basiques.

De cette constatation il ne faudrait pas conclure que l'adsorption des colorants (par unité de surface) est plus intense dans une partie de la coupe que dans l'autre, étant donné que nous ne savons rien des valeurs des surfaces internes totales (par unité de volume) des différents constituants de la tige végétale. Le cas de BEUTNER semble devoir être interprété comme une coloration non élective banale.

(2) Le même raisonnement s'applique au cas des floculats formés par deux colorants de signe inverse ou par un colorant et un colloïde. Ainsi ZSIGMONDY (18) montre que l'alcool décompose le précipité formé par la fuchsine et l'or colloïdal.

tion de la cellule vivante, et KELLER lui-même tient compte des innombrables causes d'erreur possibles. Que nous donne cette théorie, appliquée au vacuome et à la chromopexie ?

La fraction colloïdale des colorants qui floccule avec les protéines du vacuome est chargée négativement. Ces protéines seraient donc positives. Des mesures électriques et microélectriques montrent que, dans les objets étudiés, les vacuoles entières sont chargées positivement par rapport au cytoplasme environnant (voir *in* KEDROWSKI, 31, p. 623). Les colorants acides qui s'accumulent à l'état libre dans des vacuoles néoformées seraient aussi chargés positivement. C'est là, comme le remarque KEDROWSKI, la théorie de von MÖLLENDORFF, au signe près. En réalité, la question de la charge électrique des vacuoles est d'une complexité beaucoup plus grande (voir dans KELLER, 32, p. 300).

Enfin, les « protéines vectrices » qui adsorbent les colorants acides (électropositifs) seraient électronégatives. D'ailleurs, KELLER constate lui-même que les colorants acides colloïdaux, pour une raison inconnue, se chargent négativement, une fois introduits dans la circulation sanguine.

Quant aux corpuscules phagocytés, ils seraient électronégatifs eux aussi (SCHULEMANN, 17), ce qui pourrait expliquer leur affinité pour les éléments électropositifs du vacuome (réaction vacuolaire) d'une part, et, d'autre part, la perte de cette affinité pour les vacuoles ayant secondairement accumulé des protéines électronégatives (p. 181 ; Pl. VI, fig. 4).

La genèse des éléments du vacuome. Le crinome.

Si les auteurs, comme von MÖLLENDORFF (pour qui les « granula » sont constitués de substances « passives », en marge de la vie cellulaire), peuvent être qualifiés de « mécanistes » du vacuome, celui-ci possède aussi, à l'autre extrême, ses « vitalistes » qui font des vacuoles des organites bien individualisés et doués de continuité génétique. Ainsi, DANGEARD nie la possibilité d'une formation de vacuoles *de novo*. Toute vacuole serait engendrée par la division d'une vacuole préexistante. Pourtant les observations de Mlle CASSAIGNE (31) sur les levures, les données sur la néoformation des vacuoles animales (voir : PARAT, 28), nos propres constatations sur les cellules phagocytaires, le fait de la variation extrême de

forme du vacuome des Opalines (KEDROWSKI, 31a), sont contraires à l'idée de DANGEARD. On peut dire que la multiplication des vacuoles uniquement par division est une règle infirmée par un nombre d'exceptions tellement considérable qu'elle ne peut être en aucune façon érigée en dogme. A côté de ce processus, il en existe un autre qui est la formation de vacuoles *de novo* ; processus que l'on compare généralement à une « précipitation liquide » ou « séparation de phases » (*Entmischung*) entre deux liquides non miscibles ou au rejet de l'eau par un gel colloïdal en synérèse. Les substances constitutives des vacuoles, accumulées en excès au sein du cytoplasme, « précipiteraient » à un moment donné sous forme de vacuoles.

Il est malaisé de concevoir la formation du vacuome comme l'apparition d'une « phase aqueuse » au sein d'un protoplasme « hydrophobe » (d'ailleurs souvent assez peu « hydrophobe » pour diffuser librement dans l'eau environnante, une fois la membrane cellulaire crevée). De la « phase cytoplasme » et de la « phase vacuome », c'est bien la première qui est souvent la plus riche en eau.

La présence de colloïdes dans les vacuoles les plus jeunes est un fait très général. La grande densité des éléments vacuolaires les plus petits (expériences de centrifugation de HEILBRUNN, de MILOVODOV) parle en faveur de cette idée. Dans certains cas limites, la quantité de colloïdes est trop faible pour que l'on puisse les mettre en évidence par floculation (cellules chordales, PARAT). Cependant, la conception de CORTI (idée de « lacunome »), suivant laquelle les vacuoles seraient constituées uniquement de solutions aqueuses de cristalloïdes, est contraire aux faits expérimentaux.

PARAT et PARAT (27) trouvent dans l'œuf d'Oursin de véritables inversions de dispersion entre deux phases, dont l'une est hydro-protéique (vacuome), l'autre hydro-lipoprotéique (cytoplasme). Nous envisagerons donc plutôt la genèse du vacuome au milieu du cytoplasme comme correspondant à la séparation entre deux phases, toutes les deux colloïdales, toutes les deux aqueuses, mais, cependant, — non miscibles. La physique des colloïdes connaît de ces cas : par des adjonctions d'électrolytes, on arrive à séparer la gélatine en deux « phases aqueuses » non miscibles. Les lipéoïdes semblent être pour quelque chose dans la non miscibilité du cytoplasme et du vacuome. D'ailleurs, quand il existe une région cellulaire déterminée, spécialement affectée au phénomène de séparation de phases, cette région se trouve surchargée en lipéoïdes diffus (« zone de Golgi » de PARAT). De même, la gélatine, que nous avons prise comme modèle physique, peut être décomposée en deux constituants, possédant une « hydrophilie » différente (KUNITZ et NORTHROP, 29).

Mais si l'apparition du vacuome dans le cytoplasme peut être assimilée à la « précipitation » d'un hydrosol dans un autre, ceci implique nécessairement l'existence, avant ladite précipitation, des colloïdes constitutifs du vacuome, à l'état diffus dans le cytoplasme.

C'est ainsi que nous arrivons par une autre voie à l'idée de CHLOPIN (*pro parte*) (voir : CHLOPIN, 24; CHLOPIN et CHLOPIN, 25; CHLOPIN, 27, 29 et surtout : 30).

Où CHLOPIN apporte une donnée vraiment nouvelle, c'est en montrant que les vacuoles formées sous l'action des colorants basiques en excès, contiennent des substances albuminoïdes basophiles après fixation. Ces colorants provoquent donc la séparation aux dépens du cytoplasme d'une substance qui préexiste à l'état diffus; ce point de la théorie de CHLOPIN nous paraît acquis. Est-ce la même substance qui constitue initialement les éléments du vacuome et qui est responsable de leur colorabilité par les colorants basiques? L'exposé précédent rend cette hypothèse plausible. Mais CHLOPIN semble admettre que le vacuome se forme normalement dans la cellule, non point parce que la « substance pré-vacuolaire » hypothétique se trouve en excès, mais parce qu'elle est « démasquée » sous l'action de corps jouant le rôle des colorants vitaux (notion de « crinome »). Mais l'idée que les substances constitutives du vacuome (normal) seraient combinées au moment même de l'*Entmischung* à des substances de signe électrique opposé, est difficile à concilier avec la forte affinité du vacuome pour les colorants basiques. Lorsque la coloration des vacuoles nécessite le déplacement d'autres substances (alcaloïdes) par les colorants, on sait que la colorabilité du vacuome se trouve aussitôt affaiblie (BORNSTEIN et RÜTHER, 25). L'hypothèse de substances ayant le même signe électrique que les colorants basiques réapparaît avec une vraisemblance nouvelle dans les cas où le vacuome perd son affinité pour les colorants basiques à la suite d'une accumulation secondaire de protéines de réserve; mais ceci n'est plus la théorie de CHLOPIN. Quant à la théorie de CHLOPIN, relative à l'accumulation des colorants acides, nous en avons parlé plus haut (p. 202).

Le fait de former des vacuoles nouvelles sous l'action de doses exagérées de colorants vitaux basiques paraît être une propriété très importante de la cellule vivante. Dans notre pratique personnelle, nous avons rencontré quelques rares exemples de cellules dépourvues de vacuome à certains stades de leur évolution; mais nous ne connaissons point d'exemples (du moins dans le règne animal) de cellules où l'on ne puisse provoquer la néoformation de vacuoles colorées en prolongeant suffisamment l'action des colorants.

Le cas des Protozoaires nécessite une mention spéciale.

Chez les Infusoires, la formation de *Exkretperlen* est connue depuis PROWAZEK (97). Les conditions de leur formation ont été étudiées par SLONIMSKI et ZWIBAUM (22, 22a) et par ANDREJEWA (29).

ALEXEIEFF (29), puis V. KOERING (30) confondent ces « perles » avec les mitochondries.

Au cours de nos observations sur les Infusoires, nous avons vu que la formation des « perles d'excrétion » (p. ex., chez *Vorticella*) pouvait être provo-

quée non seulement par les colorants basiques, mais aussi par certains colorants acides (bleu de méthyle); les « perles » avaient alors un aspect particulier.

La formation des « perles » n'est nullement un phénomène morbide. Dans de grands récipients servant à l'entretien de Vorticelles et contenant des traces de rouge neutre, nous avons observé pendant des semaines des individus porteurs de « perles » : à cette concentration de colorant, le vacuome (« granula acidophiles ») n'était pas coloré. Ces observations sont en accord avec celles de SLONIMSKI et ZWEIBAUM.

ANDREJEWA (*loc. cit.*) remarque que la formation de « perles » n'est pas forcément liée à l'action des colorants vitaux, étant donné qu'on peut en observer l'existence en absence de toute coloration. L'excrétion de substances sous forme de « perles » nous apparaît dès lors comme une fonction physiologique continue des Infusoires.

Notons que les « perles » se forment au niveau des stries ciliaires, ou en des points qui sont en rapport avec l'ornementation superficielle des individus (*Vorticella monilata*).

Chez les Flagellés, nous avons observé que les colorants vitaux à des concentrations élevées provoquaient la formation de sortes de « boules sarcodiques » au sein des flagelles : ces boules étaient intensément colorées. Il semble qu'il s'agisse là d'une séparation entre deux constituants chimiques des flagelles : l'un de ces constituants se gonfle par absorption d'eau et accumule les colorants.

Essai d'une idée d'ensemble sur le vacuome.

Nous commencerons par une citation de DEVAUX (30) :

« L'activité du protoplasma vivant est liée à l'organisation, celle du protoplasma mort en est indépendante, et même elle la détruit. Telle est la différence fondamentale qui distingue ces deux activités. La coagulation (avec ou sans liquéfaction partielle) exprime en effet le passage de l'une à l'autre, elle est la manifestation de l'apparition d'affinités, *très marquées, mais non coordonnées*, dans la masse même du cytoplasma.

Il est important de noter du reste que, dans le protoplasma vivant, les affinités chimiques ne sont que masquées, sans doute par équilibration réciproque, puisqu'elles apparaissent subitement, et avec puissance, dans toute la masse, au moment de la mort.

On doit dès lors se demander si cet équilibre des forces moléculaires existe partout au même degré, si par exemple les activités ne seraient pas localisées le long des surfaces à la façon de ce qui se passe dans les catalyseurs. »

Cette idée conduit DEVAUX à sa remarquable conception de « l'activation par mise en surface » : toute surface cytoplasmique (externe ou interne) serait caractérisée par la formation d'une membrane de coagulation ; ces membranes polarisées (catalytiques) seraient le siège de toutes les activités de la cellule. L'apparition

rition d'*affinités* nécessaires à l'activité *coordonnée* de la cellule serait liée à l'apparition des surfaces (externes et internes) du cytoplasme : *activation par mise en surface* ⁽¹⁾.

L'existence de surfaces est un caractère inhérent au vacuome (interface vacuome/cytoplasme ; surface micellaire des colloïdes dispersés contenus dans les vacuoles). Le fait même de la coloration vitale du vacuome acquiert dès lors une signification nouvelle. Selon l'idée de DEVAUX, les « affinités cytoplasmiques » de la cellule vivante seraient masquées « par saturation réciproque ». Le vacuome serait un lieu d'« affinités libres ». L'existence de ces *affinités libres* serait le caractère physiologique primordial du vacuome. Cette interprétation est, dans une certaine mesure, l'inverse de celle de von MÖLLENDORFF : le vacuome se colore sur le vivant, non point parce qu'il est, pour ainsi dire, en marge de l'activité cellulaire, mais parce qu'il est le siège d'affinités libres, susceptibles de réagir à l'introduction de substances étrangères dans le cytoplasme.

La conception de DEVAUX est extrêmement féconde en développements. Elle permet d'entrevoir une explication de ce fait que l'adsorption de sels par la cellule prend place uniquement au niveau de la membrane externe et des vacuoles (GENEVOIS, 25 ; GÉNAUD, 30). Les observations de CHAMBERS (28) sur le *pouvoir tampon* étonnant du cytoplasme, pouvoir étroitement lié à la vie de la cellule, se prêteraient à une explication nouvelle. Toutes ces expériences tendent, en effet, à démontrer — par des voies différentes — ce fait unique, que *lorsque, par l'action d'agents divers, nous essayons de modifier la composition de la cellule, et tant que la cellule vit, c'est avant tout la composition du vacuome qui se trouve modifiée*.

Une fois le vacuome saturé, l'accumulation des colorants vitaux basiques finirait par produire une rupture d'équilibre dans les « affinités réciproquement saturées » du cytoplasme ; il en résulterait le « démasquage » d'un constituant chimique, qui se rassemblerait en vacuoles et serait « activé par mise en surface » (cristome).

(1) De même, la sursaturation du cytoplasme par un colorant acide provoque la séparation de ce dernier dans des vacuoles néoformées. Au sein de ces vacuoles, le colorant conserve des « affinités libres » — il est « reaktionsfähig ». Le mécanisme de la formation des éléments normaux du vacuome et des vacuoles chromopexiques semble être le même (von MÖLLENDORFF, 20 ; EVANS et SCOTT, 21).

Suivant l'hypothèse diastasique du vacuome, examinée plus haut, les colloïdes vacuolaires serviraient de supports à des ferments. Les « affinités non-équilibrées » de ces colloïdes leur permettraient de fixer les substances venues de l'extérieur. Ainsi se trouverait réalisé à l'optimum un système catalytique, constitué par une surface adsorbante + un catalyseur biochimique ⁽¹⁾.

D'autre part, suivant la terminologie de KELLER, le vacuome serait une « anode cellulaire », c'est-à-dire un lieu de charge électrique positive et d'oxydation. Ce caractère est particulièrement accentué dans le vacuome des organes respiratoires des Crustacés inférieurs (*Netzlücken* de KELLER et GICKLHORN, 25). Ce fait souligne l'importance du rôle qu'il doit jouer dans les phénomènes d'oxydations cellulaires. PARAT (28), GENEVOIS (28) ont déjà insisté sur l'importance de ce rôle.

Chondriome et vacuome comme lieux de ségrégation.

La conception de chondriome, d'origine zoologique (BENDA), fut étendue ensuite à la cellule végétale (PENSA, GUILLIERMOND); au contraire, la conception de vacuome, introduite par un botaniste, gagna plus tard le règne animal (GUILLIERMOND, PARAT). La conception des « granula d'Altmann » et celle des « granula de von MÖLLENDORFF » évoluèrent parallèlement. Parallèlement évoluèrent aussi les deux doctrines, attribuant la fonction de ségrégation — l'une au chondriome, l'autre au vacuome.

A la conception du « vacuome-électivine » de DANGEARD correspond celle des « écleptosomes » de REGAUD; « l'appareil de ségrégation » d'EVANS et SCOTT désigne le vacuome. A l'exemple du bleu de méthylène (SCHMIDT, 06), correspond celui du vert Janus (COWDRY, 26). Le développement considérable de l'interface chondriome/cytoplasme invoqué par LECOMTE DU NOÛY et COWDRY (27) pour

(1) Ce point de vue trouve un recoupement intéressant dans l'idée de J. SPEC, dont nous citons la phrase suivante : « Ja, wenn Granulen nach aussen gelangen und ihre Substanz in Wasser gelöst wird, kann sogar ihre Lösung noch die gleiche spezifische Färbbarkeit zeigen. ... »

Es liegt ganz nahe auch eine stärkere Adsorption mancher Fermente in solchen heterogenen Bezirken des Protoplasmas wie die Granulen anzunehmen, und eine solche könnte dann unter Umständen eine erhöhte Tätigkeit dieser Fermente ermöglichen » (in *Allgemeine Physiologie* de GELLHORN, 31, p. 442).

démontrer l'importance du chondriome dans les synthèses cellulaires, est invoqué par KEDROWSKI (31_a) dans le cas de l'interface vacuome/cytoplasme (cas du vacuome à « dispersion colloïdale »). C'est aussi KEDROWSKI (*loc. cit.*) qui transporte à l'interface vacuome/cytoplasme le schéma constitué par Br. ROBERTSON pour illustrer son idée sur le fonctionnement de l'interface chondriome/cytoplasme. PARAT (28) avait adopté une tierce solution en appliquant ce même schéma à l'interface chondriome/vacuome.

En fin de compte, est-ce au chondriome ou au vacuome qu'incombe le rôle d'appareil ségrégateur et synthétisant, et, si c'est aux deux, en vertu de quel principe s'établit le partage des fonctions? Autrement dit, en vertu de quel principe les substances adoptent-elles la voie du rouge neutre ou celle du vert Janus?

Nous avons examiné plus haut les faits favorables à l'idée d'appareil de ségrégation appliquée au vacuome. Les cas sont nombreux où l'on y saisit des phénomènes de condensation de substances exogènes, ou des phénomènes d'élaboration. Ces phénomènes ont une ampleur suffisante pour que le rôle ségrégateur du vacuome puisse être mis en évidence par voie morphologique. Ce qui a été mis en doute, c'est, au contraire, l'existence (indépendamment des substances secondairement accumulées) d'un vacuome initial, semblable d'une espèce cellulaire à l'autre.

C'est bien l'inverse qui a lieu dans le cas du chondriome. Ici, l'analogie de constitution saute aux yeux. Par contre l'accumulation de substances surajoutées, à quelques exceptions près, n'a pas été démontrée. Avec la notion exacte d'un chondriome *bien fixé* tombèrent une à une les conquêtes de « l'ère mitochondriale ». Au chondriome — souche de processus sécrétoires et morphogènes, se substitua un chondriome singulièrement immuable.

Mettons à part le cas des plastes végétaux. Un groupe considérable de botanistes en fait une catégorie du chondriome (« chondriome actif » de GUILLIERMOND). La fonction amylogénétique est un apanage de ce chondriome spécialisé. Il existe en outre des chromoplastes et des protéoplastes. Mais l'amylogénèse est liée à l'existence de plastes, et toutes les fois que de l'amidon se forme, il existe une lignée de chondriome spécialement différenciée à cet effet.

En dehors des plastes, dans le domaine du chondriome *sensu stricto* (« chondriome inactif » de GUILLIERMOND), les cas de ségréga-

tion massive de substances étrangères (au chondriome) sont très rares ; rares aussi les cas de genèse de structures cellulaires spécifiques à ses dépens. Le rôle morphogène du chondriome semble se limiter au cas des myofibrilles (DUESBERG). Dans certains cas il accumule des graisses, mais normalement les gouttelettes graisseuses naissent en dehors du chondriome. NOËL (22), PAILLOT et NOËL (28) décrivent une accumulation de protéines dans le chondriome des cellules hépatiques de la souris (¹). C'est là encore un cas particulier : normalement, les protéines de réserve s'accumulent dans le vacuome.

Mais, si la fonction ségrépatrice et synthétisante du chondriome ne peut que si rarement être mise en évidence, est-ce parce que cette fonction fait réellement défaut, ou est-ce parce que les substances intéressées échappent à l'œil du cytologiste ? Faut-il renoncer au schéma de ROBERTSON dans sa première édition ?

Qu'en disent les chimistes ? Mlle LE BRETON (31) est d'avis que, si l'on admet avec ROBERTSON et MARSTON que la coloration au vert Janus est une indication de la présence de protéases au niveau du chondriome, et que ... « si l'on tient compte par ailleurs des faits observés par PARAT — rH du chondriome compris entre 9 et 12 — et par JOYET-LAVERGNE — présence de glutathion au niveau du chondriome — on peut dire que dans la mitochondrie se trouvent réalisées les conditions nécessaires et suffisantes pour qu'elle soit un « lieu de synthèse » ».

Peut-être que, si le fonctionnement du chondriome ne se manifeste pas, cela tient à sa structure intime plus précise ; la variabilité fonctionnelle du vacuome nous apparaît alors comme une manifestation de sa nature « deutoplasmique » (CARREL et EBELING, 26, 26_a). Revenons à la question de partage de fonction.

PARAT (28) considère le chondriome et le vacuome comme constituant un couple fonctionnel à deux points de vue :

1, Le chondriome réducteur serait le siège de réactions d'oxydo-réductions couplées. Le vacuome, oxydant, serait le siège d'oxydations libres.

(¹) La question a été reprise dernièrement par MUGGIA et MASUELLI (32). Ces auteurs considèrent que le changement de forme du chondriome hépatique peut être attribué à une modification globale dans la consistance du cytoplasme en fonction de l'alimentation et non point à une accumulation de substances au sein de chondriosomes individuels.

2, L'interface chondriome/vacuome serait une interface catalytique (dans le sens de ROBERTSON), réalisant à l'optimum les conditions requises par l'auteur australien.

La première théorie sort des cadres de ce chapitre. De notre côté nous n'apportons aucun argument nouveau, ni pour, ni contre. Elle reste, à notre avis, l'une des plus intéressantes, parmi les théories actuelles relatives à cette question. La deuxième nécessite l'existence effective d'une importante interface chondriome/vacuome ; c'est là son point sensible. D'abord elle ne peut s'adresser qu'à une partie du chondriome : au « chondriome actif » (dans le sens de PARAT) et, plus précisément, aux cas de « syntopie » (expression de HIRSCHLER) entre le « chondriome actif » et le vacuome. PARAT (30) remarque que cette « syntopie » ... « se reproduira nécessairement, inéluctablement à l'acmé du fonctionnement cellulaire ». Il n'en est pas moins vrai que, si l'existence d'un « chondriome actif » est un fait très répandu dans les cellules animales, ce n'est pas un fait général (PARAT, *loc. cit.*). Et même dans les cas de « syntopie », pour que des molécules d'acides aminés puissent plonger dans la phase lipoïdique par leurs groupements lipophiles, tout en ayant leurs groupements hydrophiles immergés dans la phase aqueuse, il ne suffit pas que les chondriosomes soient au contact des vacuoles ; il faudrait que le chondriome fasse partie intégrante de la membrane de condensation périvacuolaire, ce qui ne nous paraît pas évident.

Enhardis par nos résultats sur les Spongiaires, nous adoptons comme hypothèse de travail, l'idée d'un couple fonctionnel chondriome/vacuome dans la digestion intracellulaire : le vacuome présiderait à la digestion, le chondriome à l'assimilation. La deuxième moitié de cette hypothèse n'a pu être vérifiée que dans un cas sur trois. VERA KÆRING (30) considère le vacuome comme un système protéolytique, le chondriome comme un système protéosynthétique. La deuxième moitié de cette hypothèse, d'abord gratuite, est entachée en plus d'une erreur assez grave : KÆRING décrit comme mitochondries tout autre chose que du chondriome. KEDROWSKI (31a) introduit une distinction plus subtile : le vacuome présiderait à l'élaboration des corps de réserve, le chondriome à celle du protoplasme intergranulaire (vivant). Ici encore, la deuxième moitié de l'hypothèse est une vue pure de l'esprit.

On aurait pu admettre que le rôle ségréateur du chondriome

(lipo-protéique) ne peut consister qu'en une surcharge en l'un de ses constituants (lipides ou protides) ; nos observations sur les modifications du chondriome dans les choanocytes, au cours de la digestion intracellulaire, seraient en accord avec une pareille hypothèse. L'expérience montre que cette hypothèse est mal fondée.

En somme, le principe de partage de la fonction ségrépatrice entre le chondriome et le vacuome reste entièrement inconnu. On ne peut même pas invoquer une question de coefficient de partage entre deux solvants (cas des protéines et des graisses).

Cependant, des travaux récents montrent que le vacuome se distingue du chondriome par les conditions physico-chimiques réalisées à son niveau (voir spécialement : PARAT, 28 ; GUILLIERMOND, MANGENOT et PLANTEFOL, 32). Ceci permettrait de rechercher la solution de ce problème de partage de fonctions, non point dans la nature des substances accumulées, mais dans le caractère des transformations chimiques que ces substances subissent au cours de leur accumulation.

Il faut, d'ailleurs, distinguer entre une accumulation massive de substances au sein des chondriosomes et une adsorption superficielle.

Nous voudrions terminer ce chapitre par un schéma tiré de notre travail sur la Chlamydomonadine incolore *Polytoma uvella*. Ce schéma pourrait-il servir de point de départ à une hypothèse fructueuse sur le rôle du chondriome ?

Nous avons montré antérieurement (VOLKONSKY, 30c) que le corps de ce petit Flagellé était recouvert d'un réseau leucoplastique serré, situé immédiatement au-dessous de la membrane cytoplasmique. Ce leucoplaste subit dans son développement des variations liées à la nature de l'aliment azoté. Nous avons pu localiser trois acides aminés différents d'origine alimentaire au niveau du leucoplaste. Nous en avons conclu que le leucoplaste jouait ici le rôle d'un condensateur transitoire vis-à-vis de l'aliment azoté. En même temps, une condensation de substances protéiques s'effectue au niveau du vacuome. La quantité des protéines endovacuolaires est variable suivant la nature de l'aliment carboné et azoté ; mais les réactions histochimiques des substances accumulées sont invariables. On peut en conclure que la synthèse des acides aminés (et peut-être des premiers polypeptides) est effectuée en dehors du vacuome ; donc, vraisemblablement, au niveau du leucoplaste, où

s'accumulent les acides aminés alimentaires. Voici donc le schéma d'un nouveau couple fonctionnel, où le leucoplaste apparaît comme le lieu des premières synthèses, le vacuome — comme le lieu des synthèses ultérieures. Ici, le vacuome nous apparaît clairement comme ... « une sorte de *creuset* où s'achèvent les opérations commencées ailleurs » (PARAT, 28).

Le côté entièrement problématique consiste dans la généralisation de ce schéma. Peut-on croire que, dans les organismes dépourvus de leucoplastes, c'est le chondriome « inactif » qui assume le rôle de ce dernier dans les premières étapes de la protéosynthèse? S'il en était ainsi, cela conférerait une signification physiologique à cette constatation d'ordre morphologique, que les lieux d'absorptions intenses de substances par les cellules polarisées sont très généralement des lieux de concentration du chondriome.

Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes adressé à un *Saprolegnia*, organisme possédant une anatomie très simple et, de plus, connue à fond, grâce aux travaux de GUILLIERMOND. Les filaments mycéliens de ce champignon sont constitués d'une vacuole centrale, entourée d'une enveloppe cytoplasmique, contenant les noyaux et une couche serrée de chondriosomes. *Saprolegnia sp.* (souche de GUILLIERMOND) peut être cultivé en milieu synthétique en présence d'acides aminés (VOLKONSKY, 32). Mais les quantités d'acides aminés accumulées par le mycélium sont trop faibles, pour que les réactifs histochimiques en permettent une localisation certaine (¹).

En l'état actuel de nos connaissances, la nature du rôle physiologique du chondriome appartient entièrement au domaine des hypothèses. A quelques exceptions près, son rôle ségréateur échappe à une démonstration directe. Cependant, quelques données existent, qui peuvent servir de points de départ à des recherches suivant des voies nouvelles.

(¹) Quand on ensemente le mycélium de *Saprolegnia* dans des solutions de tyrosine à des concentrations voisines de la saturation, on constate une accumulation considérable, parfois une cristallisation, de cet acide dans le suc vacuolaire. Mais à cette concentration la tyrosine est toxique. C'est là, semble-t-il, un phénomène violent, en dehors de tout processus nutritif, comparable plutôt à une « coloration vitale » du mycélium par la tyrosine.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

En raison du nombre considérable des références concernant les questions traitées dans ce travail, nous renvoyons pour la bibliographie complète d'un certain nombre de sujets particuliers à des mémoires d'ensemble; ces mémoires seront indiqués dans l'index par la mention *BIBL.* Les millésimes sont indiqués par leurs deux derniers chiffres en italiques.

29. **Abramson (H.-A.)**. Electrokinetic phenomena; the adsorption of serum proteins by quartz and paraffin oil. *J. Gen. Phys.*, 23, 169. — 22. **Adam (N.-K.)**. The properties and molecular structure of thin films. *Proc. Roy. Soc. (A.)*, 101. — 26. **Adolph (E. F.)**. The metabolism of water in *Amæba*, as measured in the contractile vacuole. *J. exp. Zool.*, 45, p. 355. — 24. **Alexeieff (A.)**. Sur la question du noyau chez les Bactéries (contribution à l'étude des mitochondries et des grains métachromatiques). *Arch. Protist.*, 49, p. 396. — 29. Matériaux pour servir à l'étude des Protistes coprozoïques. *Arch. Zool. exp. gén.*, 68, p. 609. — 29. **Andrejewa (E. W.)**. Physiologische Studien an Protozoen; I, Die Wirkung des Elektrolyte auf einige Exkretionserscheinungen bei Infusorien. *Arch. Protist.*, 68, p. 587
27. **Bennhold (H.)**. Ueber den Einfluss von Serum auf die Diffusion saurer Farbstoffe in Gelatine-Gele. *Koll. Ztschr.*, 43, p. 328. — 29. **Benoist (H.)**, **Golblin (V.)** et **Kopaczewski (W.)**. Etudes sur les phénomènes électrocapillaires. VIII, coloration vitale. *Protopl.*, 5, p. 481. — 20. **Bethe (A.)**. Ladung und Umladung organischer Farbstoffe. *Koll. Ztschr.*, 27. — 22. Der Einfluss der H-Ionenkonzentration auf die Permeabilität toter Membranen, auf die Adsorption an Eiweissolen und auf den Stoffaustausch der Zellen und Gewebe. *Bioch. Ztschr.*, 122, p. 18. *BIBL.* — 20. **Beutner**. Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben. Stuttgart, 1920. *BIBL.* — 24. **Biedermann (W.)**. Ueber Wesen und Bedeutung der Protoplasmalipoide. *Pflüg. Arch.*, 202, p. 223. — 25. **Bornstein (A.)** und **Rüther (E.)**. Ueber den Einfluss von Alkaloïden und Salzen auf die Vitalfärbung. *Pflüg. Arch.*, 207, pp. 569 et 614. — 28. **Boutaric (A.)** et **Banès (F.)**. Sur l'immunité du granule dans les solutions colloïdales. *C. R. Ac. Sci.*, 186, p. 1003. — 24. **Bozler (E.)**. Zur Morphologie der Ernährung bei *Paramæcium caudatum*. *Arch. Protist.*, 49, p. 163. — 29. **Bratianu (S.)** et **Llombart (A.)**. Fonction colloïdo-pexique et fonction de colloïdo-stabilisation du système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. Biol.*, 101, p. 299. — 30. **B. et Guerriero (C.)**. Nouvelles recherches expérimentales sur les cellules à fonction colloïdo-pexique de l'encéphale et sur la microglie de del Rio-Hortega. *Arch. Anat. Micr.*, 26, p. 335. — 93. **de Bruynes**. La phagocytose dans les branchies des Mollusques (Moule, Anedonte). *Ann. Biol.*, 14.

22. Cantacuzène (J.). Réaction d'immunité chez *Sipunculus nudus*, vacciné contre une Bactérie. *C. R. Soc. Biol.*, 88, p. 264. — 28. Recherches sur les réactions d'immunité chez les Invertébrés (1^{er} mémoire : réactions d'immunité chez *Sipunculus nudus*). *Arch. Roum. Path. exp. et Microbiol.*, 1, p. 7. — 29. Cappell (D. E.). Intravital and supravital staining. *J. Path. and Bacter.*, 32, p. 595. — 30. Carrel (Al.). La membrane ondulante des monocytes et des macrophages. *C. R. Soc. Biol.*, 94, p. 1345. — 26. C. et Ebeling (A. H.). The fundamental properties of the fibroblast and the macrophage; I, the fibroblast. *J. exp. Medic.*, 44, p. 261 et II, the macrophage. *Ibid.*, p. 285. — 31. Cassaigne (Y.). Origine et évolution du vacuome chez les Champignons. *Rev. gén. Bot.*, 43. — 25. Causey (D.). Mitochondria and Golgi bodies in *Entamoeba gingivalis* (Gros.). *Brumt. Univ. Calif. Publ. (Zool.)*, 28, p. 1. — 26. Mitochondria in the Ciliates with special reference to *Paramæcium caudatum* Ehr. *Ibid.*, p. 31. — 26. Chambers (R.). The action of electrolytes on the physical state of protoplasm. *Amer. Natur.*, 60, p. 121. — 28. Intracellular Hydrogen ion concentration. *Biol. Bull.*, 55, p. 369. *BIBL.* — 30. La membrane semi-perméable de la cellule. *Anal. Physiol. Phys. chim. biol.*, 6, p. 233. — 28. C. et Borquist (M.). *In vitro* observations of living monocytes and clasmotocytes with reference to phagocytosis and physical properties. *Trans. 24th Ann. Meet. Nat. Tuberc. Ass.*, p. 259. — 26. C. et Reznikoff (P.). Micrurgical studies in cell physiology; I, the action of Chlorides ... on the protoplasm of *Amœba proteus*. *J. gen. Physiol.*, 8, p. 369. — 11. Champy (Chr.). Recherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. *Arch. Anat. micr.*, 13, p. 55. — 29. Chatton (Ed.). Utilisation de la gélose pour la préparation *in toto* d'éléments microscopiques en suspension dans des milieux non coagulables. *Bull. Hist. appl.*, 6, p. 268. — 30. Essai d'un schéma synthétique de l'énergide d'après une image réelle : le *Polykrikos schwartzi* Bütschli. *XI^e Congr. Intern. Zool.*, Padoue, 1930. — 29. C. et Grassé (P. P.). Le chondriome, le vacuome, les vésicules osmophiles, le parabasal, les trichocystes et les cnidocystes du Dinoflagellé *Polykrikos schwartzi* Bütschli. *C. R. Soc. Biol.*, 100, p. 281. — 30. C. et Lwoff (A.). Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infraciliature des Ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. *Ibid.*, 104, p. 834. — 31. C., L. (A.) et Lwoff (M.). La dualité figurée, substantielle et génétique des corps basaux des cils chez les Infusoires; granule infraciliaire et corpuscule ciliaire. *Ibid.*, 107, p. 560. — 31a. L'origine infraciliaire et la genèse des trichocystes et des trichites des Ciliés Fœttingeriidæ. *C. R. Ac. Sci.*, 193, p. 670. — 26. C., L. (A.) et Parat (M.). L'origine, la nature et l'évolution du pigment des *Spirophrya*, des *Polyspira* et des *Gymnodinioides*, etc. *C. R. Soc. Biol.*, 44, p. 567. — 24. Chlopin (N.). Beiträge zur Morphologie und zum Mechanismus der vitalen Granulaspeicherung. *Ber. biol. Inst. Univ. Perm.*, 3. — 27. Experimentelle Untersuchungen über die sekretorischen Prozesse im Zytoplasma. *Arch. exp. Zellf.*, 4, p. 462. — 30. Ein Beitrag zur Morphologie und zum Mechanismus der Eisenspeicherung. *Zts. Zellf. u. Mikr. Anat.*, 11, p. 316. *BIBL.* — 25. C. et Chlopin (A.). Studien über Gewebeskulturen in artfremem Blutplasma (III^e und IV^e Mitt.). *Arch. exp. Zellforsch.*, 1, p. 193. — 29. Experimentelle Untersuchungen über die Vitalfärbung tierischer Zellen. *Ibid.*, 6, p. 324. — 23. Choucroun (F.). Electrisation d'adsorption; colloïdes et membranes. *Thèse doct. sci.*, Paris. *BIBL.* — 26. Ciaccio (C.). Sur la distribution des lipoides histogènes (histolipoides) dans la cellule.

- C. R. Ass. Anat.*, 21, p. 160. — 16. Clowes (G. H. A.). Protoplasmic equilibrium. Action of antagonistic electrolytes on emulsions and living cells. *J. Physic. Chem.*, 20, p. 407. — 21. Collander (R.). Ueber die Permeabilität von Pflanz-Protoplasten für sulfosäure Farbstoffe. *Jahrb. wiss. Bot.*, 60, p. 354. — 25. Ueber die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidmembran für Säuren. Nebst Bemerkungen zur Ultrafilterfunktion des Protoplasmas. *Kolloïdchem. Beich.*, 20, p. 273. — 28. Einige Permeabilitätsversuche mit Gelatinmembranen. *Protopl.*, 3, p. 263. — 26. C. und Bårlung (H.). Ueber die Protoplasmapermeabilität von *Rheo discolor*. *Soc. Sci. Fenn. Comm. Biol.*, 2, p. 1. — 31. Cosmovici (N.). La nutrition et le rôle physiologique du vacuome chez les Infusoires. La théorie canaliculaire du cytoplasma. *Ann. Sci. Univ. Jassy*, 17, p. 294. — 26. Cowdry (E. V.). Surface film theory of the function of mitochondria. *Amer. Nat.*, 60, p. 157. — 91. Cuénot (L.). Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale; II^e partie : Invertébrés (Géphyriens : p. 593). *Arch. Zool. exp. gén.*, 2^e sér., 9.
25. Damboviceanu (A.) et Rapkine (Louis). Sur le pH intérieur de certains éléments du liquide cavitaire chez *Sipunculus nudus*. *C. R. Soc. Biol.*, 93, p. 1346. — 24. Dangeard (P.-A.) et Dangeard (P.). Recherches sur le vacuome des Algues inférieures. *C. R. Ac. Sci.*, 178, p. 1038. — 29. Dawson (J.-A.) et Belkin (M.). The digestion of oils by *Amœba proteus*. *Biol. Bull.*, 56, p. 80. — 25. Dehorne (A.). Sur les expansions pétaloïdes des leucocytes des Chatopodes. Le linome; le monaster neuromoteur. Le cas de *Leydenia gemmipara*. *C. R. Ac. Sci.*, 180, p. 333. — 25_a. Leucocytes et linome. *C. R. Soc. Biol.*, 93, p. 1361. — 04. Devaux (H.). Membranes de coagulation par simple contact de l'albumine avec l'eau, et application au protoplasma. *Proc. verb. Soc. Sci. phys. nat. Bordeaux*, 1904. — 30. Les affinités cellulaires. *Bull. Soc. Bot. France*, 77, p. 144. — 30_a. Le lien entre l'organisation et l'activité vitale. rôle des membranes plasmatiques. *C. R. Ac. Sci.*, 190, p. 1241. — 32. Même titre (*in extenso*). Impr. M. Durand, Bordeaux. — 30. Dogiel (V.). Experimente über die Ernährungsphysiologie der Infusorien. *XI^e Congr. Intern. Zool.*, p. 879. — 29. Doflein (F.) et Reichenow (E.). Lehrbuch der Protozoenkunde (V^e éd.). G. Fischer, Iena. *BIBL.* — 31. Dornesco (G.-Th.). Sur la nature vacuolaire des granulations éosinophiles des leucocytes des Batraciens. *C. R. Soc. Biol.*, 107, p. 672. — 30. Drach (P.). Etude sur le système branchial des Décapodes. *Arch. Anat. Micr.*, 26, p. 83. — 27. Duboscq (O.) et Grassé (P.-P.). Les Flagellés et Schizophytes de *Calotermes* (*Glyptotermes*) *iridipennis* Prog. *Arch. Zool. exp. gén.*, 66. — 31. L'appareil parabasal et les constituants cytoplasmiques des Zooflagellés. *C. R. Ac. Sci.*, 193, p. 164. — 13. Dubreuil (G.). Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la lignée connective descendant du lymphocyte. *Arch. Anat. Micr.*, 15, p. 53. — 31. Dunihue (F. W.). The vacuome and the neutral red reaction in *Paramœcium caudatum*. *Arch. Protist.*, 75, p. 476.
30. Ephrussi et Hugues (Y.). Sur la transformation des fibroblastes en macrophages. *C. R. Soc. Biol.*, 105, p. 697. — 24. Epstein (A.) et Rosenthal (N.). The effect of trypsin on insulin and its bearing in the causation of diabetes. *Amer. J. Physiol.*, 71, p. 316. — 15. Evans (H.) et Schulemann (W.). Ueber

Natur und Genese der durch saure Farbstoffe entstehenden Vitalfärbungsgranula. *Fol. hemat.*, 14. — 14. E., S. et Wilborn (E.). Die Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für pharmakologische Probleme. *Deutsch. med. Wochenschr.*, n° 30. — 20. E. et Scott (K.). On the differential reaktion to vital dyes exhibited by two great groups of connective tissue cells. *Contrib. Embryol.*, n° 47.

25. Fauré-Frémiet (E.). L'agglutination des amibocytes d'Arénicole. *C. R. Soc. Biol.*, 92, p. 1287. — 25a. Structure des complexes d'amibocytes obtenus *in vitro*. *Ibid.*, p. 1367. — 25b. Action de quelques cations sur les amœbocytes d'Arénicole étudiés *in vitro*. *Ibid.*, p. 1436. — 25c. La structure permanente de l'appareil excréteur chez quelques Vorticellides. *Ibid.*, 93, p. 500. — 25d. Transformations subies *in vitro* par les amœbocytes de quelques Invertébrés. *C. R. Ac. Sci.*, 181, p. 573. — 25e. La structure des complexes d'amœbocytes. *C. R. Ass. Anat.* (20^e Turin). — 26. Pseudopodes lamellaires et figures myéliniques. *C. R. Soc. Biol.*, 94, p. 31. — 27. Les amibocytes d'Invertébrés. *Bull. Hist. appl.*, 4^e ann., p. 33. — 27a. Les amibocytes des Invertébrés à l'état quiescent et à l'état actif. *Arch. Anat. Micr.*, 23, p. 99. *BIBL.* — 29. Caractères physico-chimiques des choanoleucocytes de quelques Invertébrés. *Protopl.*, 6, p. 521. — 30. Caractères des macrophages de la lymphe pleuro-péritonéale chez les Batraciens Urodèles. *Arch. Anat. Micr.*, 26, p. 475. — 30a. The kinetics of living matter. *Trans. Farad. Soc.*, 26, p. 779. *BIBL.* — 10. F. F., Mayer et Schæffer. Sur la microchimie des corps gras. *Arch. Anat. Micr.*, 12, p. 19. — 27. F. F. et Nichita (G.). Charge électrique et agglutination chez les amibocytes d'Invertébrés marins. *Ann. Physiol. Physicochim. biol.*, n° 2, p. 247. — 27a. Action de quelques cations sur les amibocytes d'Invertébrés marins. *Ibid.*, n° 3, p. 317. — 27b. Action de la concentration en ions H sur les amibocytes d'Invertébrés marins. *Ibid.* — 25. F. F. et Wallich (R.). Un facteur physique de mouvement cellulaire pendant la culture des tissus *in vitro*. *C. R. Ac. Sci.*, 181, p. 1096. — 20/21. Fenn (Wallace O.). The phagocytosis of solid Particles. I, quartz; II, carbon; III, quartz and carbon. *J. gen. Physiol.*, 3. — 21/22. The theoretical response of living cells to contact with solid bodies. *Ibid.*, 4, p. 373. — 21/22. The temperature coefficient of phagocytosis. *Ibid.*, 4, p. 331. — 28. Feyel (P.). Contribution à l'étude des constituants de la cellule rénale chez quelques Invertébrés. *Arch. Anat. Micr.*, 24, p. 359. — 08. Fischel (A.). Untersuchungen über vitale Färbung an Süswassertieren, insbesondere bei Cladoceren. Leipzig. — 30. Fischer (A.). Gewebszüchtungen (3^e éd.). München (cité d'après Kedrowski, 1932). — 30. Fischer (F. P.). Ueber die Teilchengrösse intravenös injizierter Farbstoffe in Serum und Kammerwasser. *Arch. Augenheilk.*, 103, p. 555. — 25. Fourneau (E.). Relations entre la constitution chimique des corps et leur action thérapeutique. *C. R. VI^e Conf. intern. Chimie*, p. 72. *BIBL.* — 28. François-Franck (Mme) et Fauré-Frémiet (E.). Etude cinématographique des choaneuleucocytes et de leurs mouvements. *C. R. Soc. Biol.*, 99, p. 207. — 28. Freundlich. Neue Fortschritte der Kolloidchemie und ihre biologische Bedeutung. *Protopl.*, 2, p. 278. — 27. Friedel (G.). Formes que prend la myéline au contact de l'eau. *C. R. Ac. Sci.*, 185, p. 330 et p. 1237. — 27. Fürth (R.). Zur physikalischen Chemie der Farbstoffe. III, theoretische Bemerkungen zu meiner Methode der Ladungsbestimmung von Farbstofflösungen. *Kolloidtschr.*, 41, p. 297. — 27a. V. Untersuchungen über

- den Dispersitätsgrad von Farbstofflösungen. *Ibid.*, p. 304. — 27. Adsorptions- und Diffusionserscheinungen im elektrischen Felde (Theoretische Bemerkungen). *Ztschr. phys. Chem.*, 126, p. 238. — 29. Die physikalischen Grundlagen elektrischer Potentiale im Organismus und die direkten Methoden ihrer Messung (Electrometrie). *Koll. chem. Beihefte*, 28, p. 235. — 29a. Die für die Biologie verwendbaren Methoden zur Messung der Dielektrizitätskonstanten. *Ibid.*, p. 314. — 29b. Die Dielektrizitätskonstante. *Ibid.*, p. 323.
31. Gellhorn (E.). Lehrbuch der allgemeinen Physiologie. Leipzig. *BIBL.* — 30. Genaud (P.). Recherches sur les échanges d'ions entre cellules de levure et solutions salines. *Ann. Physiol. Phys.-chim. biol.*, 6, p. 240. — 25. Génevois (L.). Sur les échanges d'ions entre sels solubles et sels très peu solubles. Les échanges d'ions dans les tissus végétaux. *Pr. verb. Soc. Sci. phys. Bordeaux*, ann. 1925. — 28. Coloration vitale et respiration. *Protopl.*, 4, p. 67. — 32. Gérard (P.) et Cordier (R.). Sur l'élimination rénale d'encre de Chine de dispersions différentes. *C. R. Ass. Anat.*, 27^e réunion (Nancy), p. 320. — 27. Gicklhorn (J.). Ueber vitale Kern- und Protoplasmafärbung an Pflanzenzellen. *Protopl.*, 2. — 29. Beobachtungen über vitale Farbstoffspeicherung. *Kolloidchem. Beihefte*, 28. — 30. Zur Frage der Lebendbeobachtung und Vitalfärbung von Chromosomen pflanzlicher Zellen. *Protopl.*, 9. — 31. Entwicklung und gegenwärtiger Stand einiger Probleme und Ziele der Vitalfärbung. *Ergebn. Physiol.*, 31, p. 388. — 25. G. et Keller (R.). Ueber elektive Vitalfärbungen der Kiemensäckchen von *Daphnia magna* Müller, als Beispiel Organ- und Zellspezifischer Differenzierung. *Zts. Zellf. u. micr. Anat.*, 2, p. 515. — 28. G. et Umrath (K.). Messung elektrischer Potentiale pflanzlicher Gewebe und einzelner Zellen. *Protopl.*, 4, p. 228. — 28-29. Glazunow (M.). Beobachtungen über mit Trypanblau vitalgefärbten Meerschweinchen. *Zts. Zellf. u. micr. Anat.*, 6 et 9. — 20. Goodrich (E.-S.). The pseudopodes of the leucocytes of Invertebrates. *Quart. J. micr. Sci.*, 64, p. 19. — 24. Goodrich (H.-B.). Cell behavior in tissue cultures. *Biol. Bull.*, 46, p. 252. — 25. Grafe (V.). Zur Physiologie und Chemie der Pflanzenphosphatide. *Bioch. Ztschr.*, 159, p. 444. — 25. G. et Horvat. Die wasserlöslichen Phosphatide aus der Wurzel der Zuckerrübe; (I). *Ibid.*, 158, p. 449. — 25. G. et Magistris (H.). Die wasserlösliche Phosphatide aus *Aspergillus oryzae*; (II). *Ibid.*, 162, p. 366. — 26. Grassé (P.-P.). Contribution à l'étude des Flagellés parasites. *Arch. Zool. exp. gén.*, 65, p. 347. — 08. Guilliermond (A.). Recherches cytologiques sur la germination des Graminées et contribution à l'étude des grains d'aleurone. *Arch. Anat. micr.*, 8, p. 10. — 10. A propos des corpuscules métachromatiques ou des grains de volutine. *Arch. Protist.*, 19, p. 269. — 27. Sur l'action du rouge neutre sur les cellules végétales et sur la coloration vitale du vacuome. *Bull. Histol. appl.*, 4. — 33. G. Mange-not (G.) et Plantefol (L.). Traité de cytologie végétale. Le François, Paris. *BIBL.*
22. Haan (J. de). Mobilité amiboïde et phagocytose. *Arch. Néerl. Physiol.*, 6, p. 388. — 23. Die Speicherung der sauren Vitalfarbstoffe in den Zellen mit Beziehung auf die Probleme der Phagozytose und der Zellpermeabilität. *Pflüg. Arch.*, 201, p. 393. — 23. H. et Bakker (A.). Die Ausscheidung von sauren Vitalfarbstoffen durch die Nieren und der Mechanismus der Nie-

renwirkung. *Ibid.*, 199, p. 125. — 27. H. et Høekstra (R.-A.). Versuche über die Herkunft und die Deutung des Kuppferschen Systems der Leber. *Arch. exp. Zellforsch.*, 5, p. 35. — 28. H., Kolk (K.) et Gerritsma (H.). Weitere Untersuchungen über die Züchtung von Wanderzellen mittels Durchströmung. Nahrungsbedürfnisse, Phagozytose und Vitalfärbung. *Ibid.*, 7, p. 283. — 29. Hall (R.-P.). Reaction of certain cytoplasmic inclusions to vital dyes and their relation to mitochondria and Golgi apparatus in the flagellate *Peranema trichophorum*. *J. Morphol.*, 48, p. 105. — 30. Cytoplasmic inclusions of Trichamæba and their reaction to vital dyes and osmic and silver impregnation. *Ibid.*, 49, p. 139. — 30a. Osmiophilic inclusions similar to Golgi apparatus in the flagellates *Chromulina*, *Chilomonas* and *Astasia*. *Arch. Protist.*, 69, p. 7. — 30b. Cytoplasmic inclusions of *Menoidium* and *Euglena*, with special reference to the vacuome and « Golgi apparatus » of euglenoid flagellates. *Ann. Protist.*, 3, p. 57. — 31. Vacuome and Golgi apparatus in the Ciliate, *Stylonychia*. *Ztschr. Zellf. micr. Anat.*, 13, p. 770. — 31. H. et Dunihue (F.-W.). On the vacuome and food vacuoles in *Vorticella*. *Trans. Amer. micr. Soc.*, 50, p. 196. — 30. H. et Nigrelli (R.-F.). Relation between mitochondria and food vacuoles in the Ciliate *Vorticella*. *Ibid.*, 49, p. 54. — 31. The vacuome of the flagellate *Chlamidomonas*. *J. Morphol. and Physiol.*, 51, p. 527. — 12. Hamburger (H.-J.). Physikalisch-chemische Untersuchungen über Phagozyten. Wiesbaden. — 22. Hansteen-Cranner (B.). Zur Biochemie und Physiologie der Grenzsichten lebender Pflanzenzellen. *Medlinger fra Norges Landbrukshoiskole*, fasc. 1 et 2. — 25. Harkins (W.-D.). The orientation of molecules in the surfaces of liquids. *Coll. Sympos. Monogr.*, N. York. 2, p. 162. — 28. Surface energy and orientation of molecules in surfaces as revealed by surface energy relations. *Ztschr. physik. Chemie*, 139, p. 647. *BIBL.* — 11. Harvey (E.-N.). Studies on the permeability of cells. *J. exp. Zool.*, 10, p. 507. — 30. Haye (A.). Ueber den Excretionsapparat bei Protisten, nebst Bemerkungen über einige andere feinere Strukturverhältnisse der untersuchten Arten. *Arch. Protist.*, 70, p. 1. *BIBL.* — 26. Heilbrunn (L.-V.). The physical structure of protoplasm of seurchin eggs. *Amer. Nat.*, 60, p. 43. *BIBL.* — 22. Hertz (W.). Die Vitalfärbung von *Opalina ranarum* mit Säurefarbstoffen und ihre Beeinflussung durch Narkotikum. *Pflüg. Arch.*, 196, p. 444. — 08. Hérubel (M.-A.). Recherches sur les Sipunculidés. *Mém. Soc. Zool. France*, 1907. — 17. Herzfeld (E.). Ueber die Natur und Genese der am lebendem Tier erhaltenen granulären Färbungen bei Anwendung basischer und saurer Farbstoffe. *Anat. Hefte*, 54. — 02. Himmel (J.). Le rouge neutre (Neutralroth). Son rôle dans l'étude de la phagocytose en général et dans celle de la blennorrhagie en particulier. *Ann. Inst. Pasteur*, 16, p. 663. — 31. Hirsch (G.-Ch.). Die Lebendbeobachtung der Restitution des Sekretes im Pankreas: (IIIe partie). *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 14, p. 517. — 32. (*Id.*, Ire partie). *Ibid.*, 15, p. 36. — 32. Hirschler (J.). Neue Versuche, Flagellaten- Organellen (Achsenstäbe, Parabasalia, Paracentrosome) mit gewissen Bestandteilen der Metazoen-Zellen zu vergleichen, wie auch Angaben über das sog. Fusom. *Ibid.*, 15, p. 809. — 14. Høeber (R.). Beitrag zur physikalischen Chemie der Vitalfärbung. *Bioch. Ztschr.*, 67, p. 420. — 24. Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. 5e éd. Leipzig. *BIBL.* — 28. H. et Høeber (Jos.). Beobachtungen über die Zusammensetzung des Saftes von *Valonia macrophysa*. *Pflüg. Arch.*, 219, p. 260. — 30. Hofeneder (H.). Ueber die animalische Ernährung von *Ceratium hirundinella* O. F. Müller und über die Rolle des Kernes bei

- dieser Zellfunktion. *Arch. Protist.*, 71, p. 1. — 90. Hofer (B.). Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss des Kernes auf das Protoplasma. *Jen. Ztschr. Naturw.*, 24, p. 105. — 30. Hollande (A.-Ch.). Nouvelle technique de mise en évidence rapide et certaine du chondriome dans les cellules. *C. R. Soc. Biol.*, 104. — 13. Holzberg (L.). A new method of isolating trypsin. *J. Biol. Chem.*, 14, p. 335. — 26. Horning (E.-S.). Studies on the mitochondria of *Paramœcium*. *Austral. J. exp. Biol. a. med. Sci.*, 3, p. 89. — 27. Mitochondrial behavior during the life-cycle of *Nyctotherus cordiformis*. *Ibid.*, p. 69. — 28. Studies on the behavior of mitochondria within the living cell. *Ibid.*, 5, p. 143. — 31. Hosselet (C.). Contribution à l'étude du chondriome chez les Insectes (Culicides, Phryganides). *Arch. Zool. exp. gén.*, 72, p. 1. — 24. Howland (R.-B.). On the excretion of nitrogenous waste as a function of the contractile vacuole. *J. exp. Zool.*, 40, p. 231.
27. Irwin (M.). Predicting penetration of dyes into living cells by means of an artificial system. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 25, p. 127. — 27. Penetration of alkaloids into vacuoles of living cells. *Ibid.*, p. 135. — 28. Multiple partition coefficient of penetration. *Ibid.*, 26, p. 127. — 29. Spectrophotometric studies on penetration (V.). *J. gen. Physiol.*, 12, p. 407.
22. Jarisch (A.). Beiträge zur Pharmakologie der Lipoide (III). *Pflüg. Arch.*, 149, p. 337. — 25. Jasswoin (G.). Zur Histophysiologie der *Tubuli contorti* der Amphibienniere. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 2, p. 741. — 23. Jolly (J.). *Traité technique d'Hématologie* (2 vol.). Paris. *BIBL.*
26. Kaho (H.). Ein Beitrag zur Theorie der antagonistischen Ionenwirkungen der Erdalkalien auf das Pflanzenplasma (III). *Bioch. Ztschr.*, 167, p. 25. — 27. Karczag (L.). Die Elektropie als Arbeitshypothese. *Kolloid-Ztschr.*, 41, p. 310. *BIBL.* — 31. Kedrowski (B.). Die Stoffaufnahme bei *Opalina ranarum* (III), Aufnahme und Speicherung von Farbstoffen. *Zts. Zellf. u. mikr. Anat.*, 12, p. 600. — 31a. Id., partie V, Der Sgregationsapparat. *Ibid.*, 13, p. 1. *BIBL.* — 31b. Vitalfärbungen. *Protopt.*, 13, p. 389. — 32. Ueber die Natur des Vakuoms. *Zts. Zellf. u. mikr. Anat.*, 15, p. 731. — 21. Keller (R.). Azidität und Basizität. *Ztschr. physik. Chemie*, 48, p. 339. — 26. Kataphorese von Stoffen unter physiologischen Bedingungen. *Bioch. Ztschr.*, 168, p. 95. — 29. Elektrostatik als eigenes Arbeitsgebiet in der Biochemie. *Kolloidchem. Beihefte*, 28, p. 219. — 31. Elektrische Potentiale der Haut. *Protopt.*, 13, 463. — 32. Die Elektrizität in der Zelle (3^e éd.). Märlich-Ostrau. *BIBL.* — 30. Kirby (H.). The parabasal apparatus and cytoplasmic inclusions of *Trypanosoma* from *Termopsis*. 28th Congr. Amer. Soc. Zool., 1930. — 30a. The structure and reproduction of the parasome or parabasal body in trypanomonad flagellates. *Ibid.* — 18. Kiyono (K.) et Nakano (T.). Weitere Untersuchungen über die histiozytären Zellen. *Acta Schol. med. Univ. Imp. Kioto*, 3, p. 55. — 30. Kœring (V.). The neutral red reaction. *J. Morph. a. Physiol.*, 49, p. 45. — 08. Kollmann (M.). Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés. *Ann. Sci. nat. Zool.*, 9^e sér., 8, p. 1. — 88. Kowalewsky. Action du bleu de méthylène sur les éléments figurés du sang. *Anal. Anz.*, 2, p. 3. — 32. Kowarzyk (H.) et Lach (St). Einfluss der Gurwitschstrahlen auf die Pha-

- gozytose von Bakterien. *Biol. Zentralbl.* 52, p. 684. — 29. Krascheninikow (S.). Ueber den Exkretionsapparat einiger Infusorienarten aus der Familie *Ophryoscoledidae* etc. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 8, p. 470. — 27. Krebs (H.) et Nachmannsohn. Vitalfärbung und Adsorption. *Bioch. Ztschr.*, 186, p. 478. — 27. Krizenecki (J.) et Dubska (O.). Eine Methode zur Messung der Oberflächenspannung biologischer Flüssigkeiten gegen ein Protoplasmaähnliches Medium. *Protopl.*, 2, p. 460. — 29. Kunio (S.). On the real nature of vital staining. *Fol. Anat. Japon.*, 8, p. 51. — 30. Further studies on the real nature of vital staining. *Ibid.*, p. 391. — 29. Kunitz (M.) et Northrop (John H.). Fractionation of gelatin. *J. gen. Physiol.*, 12, p. 379.
17. Langmuir (I.). Fundamental properties of solids and liquids. II, liquids. *J. Amer. chem. Soc.*, 39, p. 1848. — 25. Lapique (Louis). La cellule est-elle enveloppée d'une membrane semiperméable? *Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, I, p. 85. — 12. Laveran (A.) et Mesnil (F.). Trypanosomes et trypanosomiasis (2^e éd.). Masson. Paris. *BIBL.* — 25. Leathes (J.-B.). Rôle of fats in vital phenomena. *The Lancet*, pp. 803, 853, 957, 1019. *BIBL.* — 31. Le Breton (E.). Mitochondries et ferments protéolytiques. Examen de l'hypothèse de Robertson-Marston. *Arch. Biol.*, 42, p. 349. — 29. Lecomte du Noüy (P.). Equilibres superficiels des solutions colloïdales. *Monogr. Inst. Pasteur*, Paris. — 10. Levaditi (C.) et Muttermilch (St.). Mécanisme de la phagocytose. *C. R. Soc. Biol.*, 68, pp. 635 et 1079. — 22. Lewis (W.-H.). The adhesive quality of cells. *Anat. Rec.*, 23, p. 38. — 31. Pinocytosis. *Bull. J. Hopkins Hosp.*, n° 1, p. 177. — 25. L. et Lewis (Marg.). Transformation of the mononuclear blood-cells into macrophages, epithelioid cells and giant cells in hanging-drop cultures from lower Vertebrates. *Publ. Carnegie. Inst. Wash.*, n° 363, p. 95. *BIBL.* — 28. Liesegang (R.-E.). Biologische Kolloidchemie. *Wissensch. Forschungsber. Naturwiss. Reihe*, 20. *BIBL.* — 28. Lison (L.). Recherches sur le mouvement des amibocytes d'Invertébrés. *Protopl.*, 4, p. 367. — 29. La tension superficielle joue-t-elle un rôle dans la genèse et le maintien des lames hyaloplasmiques chez les amibocytes. *Ibid.*, 7, p. 32. — 30. Recherches histophysiologiques sur les amibocytes des Echinodermes. *Arch. Biol.*, 11, p. 175. — 20. Loeb (L.). The movement of the amœbocytes and the experimental production of amœbocyte (cell-fibrin) tissue. *Washgt. Univ. Stud.*, 8, p. 3. — 21. Amœboid movement, tissue formation and consistency of protoplasm. *Amer. J. Physiol.*, 56, p. 140. — 12. Loewe (S.). Zur physikalischen Chemie der Lipoide (I). Beziehungen der Lipoide zu den Farbstoffen. *Bioch. Ztschr.*, 42, p. 150. — (II). Die Beziehung der Lipoide zu anderen organischen Substanzen (Narkotica, Hypnotica, u. a.). *Ibid.*, p. 190; — (III). Diffusion in Lipoiden. *Ibid.*, p. 205; — (IV). Die Eigenschaften von Lipoidlösungen. *Ibid.*, p. 307. — 98. Loisel (G.). Contribution à l'histophysiologie des Eponges. *J. Anat. et Physiol.*, 34. — 29. Lucké (B.), Mc Cutcheon (Morton), Strumia (Max) and Mudd (Stuart). On the mechanism of opsonin and bacteriotropin action. (II). *J. exp. Med.*, 49, p. 797. — 25. Lwoff (A.). La nutrition des Infusoires aux dépens de substances dissoutes. *C. R. Soc. Biol.*, 93, p. 1272. — 29. L. et Lwoff (M.). L'appareil parabasal et les constituants cytoplasmiques de *Leptomonas ctenocephali* Fanth., var. *Chattoni* Laveran et Franchini (Flagellé Trypanosomide). *C. R. Soc. Biol.*, 100, p. 557. — 31. Recherches morphologiques sur *Leptomonas ctenocephali* Fanth. (Trypanosomide). Remarque sur l'appareil parabasal. *Bull. Biol.*, 65, p. 170. *BIBL.*

18. **Mc Clure (Ch.-F.-W.)**. — On the behavior of *Bufo* and *Rana* toward colloidal dyes of the acid azo group (trypan blue and dye no 161). *Amer. Anat. Memoirs*, n° 8. — 24. **Mc Cutcheon (M.)** et **Lucké (B.)**. The mechanism of vital staining with basic dyes. *J. gen. Physiol.*, 6, p. 501. — 29. **Mc C., Strumia (M.), Mudd (St.), Mudd (Em.)** et **Lucké (B.)**. On the mechanism of opsonin and bacteriotropin action (III). *J. exp. Med.*, 49, p. 815. — 19. **Madsen (Th.)** et **Wulff (O.)**. Influence de la température sur la phagocytose. *Ann. Inst. Pasteur*, 33, p. 437. — 19. **M., W. et Watabiki (T.)**. Sur la vitesse de réaction de la phagocytose. *C. R. Soc. Biol.*, 82, p. 199. — 26. **Makarov (P.)**. Beobachtungen über den Golgischen Apparat und die Ablagerung von trypanblau in den Leberzellen... usw. *Arch. Russ. Anat., Hist. Embr.*, 5, fasc. 1. — 31. Ueber die Speicherung des Gallenfarbstoffes in Leberzellen und die Bedeutung der Fe-Salze bei Granulabildung. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 13, p. 364. — 33. **Marcou (J.)** et **Volkonsky (M.)**. Les lignées leucocytaires des Sipunculidés. *Arch. Anat. Micr.*, 29, fasc. 1. — 23. **Marston (Hedley R.)**. The azine and ozonium compounds of the proteolytic enzymes (I). *Bioch. J.*, 17, p. 851. — 26. On the acceleration of enzymatic synthesis of proteins by lipoidal emulsions. *Austral. J. exp. Biol. a med. Sci.*, 5, p. 233. **BIBL.** — 18. **Matsamuto**. La phagocytose dans la cornée suivie vitalement. *J. exp. Zool.*, 27, p. 37. — 01. **Mesnil (F.)**. Recherches sur la digestion intracellulaire et les diastases des Actinies. *Ann. Inst. Pasteur*, 15, p. 46. — 03. **M. et Mouton (H.)**. Sur une diastase protéolytique extraite des Infusoires ciliés, etc. *C. R. Soc. Biol.*, 55, p. 1016. — 12. **Metalnikoff (S.)**. Contribution à l'étude de la digestion chez les Protozoaires. *Arch. Zool. exp.*, 9, p. 373 — 26. **Michaelis (L.)**. Die Permeabilität von Membranen. *Naturwiss.*, ann. 1926. **BIBL.** — 27. **M. et Weech (A.-A.)**. Studies on the permeability of membranes (IV). *J. gen. Phys.*, II, p. 147. — 29. **Milovidov (P.-F.)**. Observations vitales sur l'altération du chondriome chez *Saprolegnia* sous l'influence de divers facteurs externes. *Rev. gén. Botan.*, 41, p. 1. — 32. **Möellendorff (M.-v.)**. Phagozytoseversuche mit Fibrozyten. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 15, p. 161. — 24. **v. Möellendorff (W. et M.)**. Durchtränkungs- und Niederschlagsfärbung als Hapterscheinungen bei der histologischen Färbunh. *Erg. Anat.* 25, p. 1. — 26. Das Fibrozyten-netz im lockeren Bindegewebe, usw. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 3. — 16. **Möellendorff (W. v.)**. Die Speicherung saurer Farben im Tierkörper ein physikalischer Vorgang. *Kolloidztschr.*, 18, p. 81. — 18. Die Bedeutung von sauren Kolloiden und Lipoiden für die vitale Farbstoffspeicherung in den Zellen. *Arch. mikr. Anat.*, 90, p. 105. — 18a. Zur Morphologie der vitalen Granulafärbung. *Ibid.*, 90, p. 463. — 20. Neue Ergebnisse der vitalen Färbung. *Münch. med. Wochenschr.*, 49, p. 1414. — 20a. Vitale Färbung an tierischen Zellen. *Ergebn. Physiol.*, 18, p. 141. **BIBL.** — 25. Beiträge zur Kenntnis der Stoffwanderungen bei wachsenden Organismen (IV). *Zts. Zellf. u. mikr. Anat.*, 2. p. 129. — 26. **Mommsen (H.)**. Ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Diffusion von Farbstoffen in eine Gelatinegallerte. *Bioch. Zts.*, 168, p. 77. — 28. **Mond (R.)** et **Hoffmann (Fr.)**. Untersuchungen an künstlichen Membranen die elektiv anionenpermeabel sind. *Pflüg. Arch.*, 220, p. 194. — 02. **Mouton (H.)**. Recherches sur la digestion chez les Amibes et sur leurs diastases intracellulaires. Thèse Sci., Paris. — 24. **Mudd (St.)** et **Mudd (E.)**. The penetration of Bacteria through capillary spaces. *J. exp. Med.*, 40, pp. 633 et 647. — 27. Untersuchungen über die Zusammensetzung der Zellmembran auf Grund einer neuen Methode zur Bestimmung der Oberflä-

- chenspannung. *Bioch. Zts.*, 186, p. 378. **BIBL.** — 29. **M., Lucké (B.), McCutcheon (M.) et Strumia (M.).** On the mechanism of opsonin and bacteriotropin action (I). *J. exp. Med.*, 49, p. 779. — 32. **Muggia (G.) et Masuelli (L.)** La citologia della cellula epatica in rapporto alla qualità del alimento introdotto. *Zts. Zellf. u. micr. Anat.*, 16, p. 659.
27. **Nageotte (J.).** Lames élémentaires de la myéline en présence de l'eau. *C. R. Ac. Sci.*, 185, p. 44 — 27^a. Sur la structure microscopique et moléculaire des formations myéliniques. *Ibid.*, 185, p. 1021. — 28. Sur l'étude des bulles de myéline au microscope. *Ibid.*, 186, p. 300. — 28^a. Sur les onduations browniennes de lames minces et de filaments dans les formations myéliniques. *Ibid.*, p. 315. — 24. **Nassonov (D.)** Der Exkretionsapparat Kontraktile Vakuole der Protozoa als homologe des Golgi'schen Apparates der Metazoenzellen. *Arch. mikr. Anat. Entw. Mech.*, 103, p. 437. — 25. Zur Frage über den Bau und die Bedeutung des Lipoiden Exkretionsapparates bei Protozoa usw. *Ztschr. Zellf. mikr. Anat.*, 2, p. 87. — 27. Die Tätigkeit des Golgi Apparates in den Epithelzellen des Epididymis. *Ibid.*, 4, p. 573. — 05. **Nierenstein (E.).** Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten. *Ztschr. allg. Physiol.*, 5, p. 435. — 20. Ueber das Wesen der Vitalfärbung. *Pflüg. Arch.*, 179, p. 233. — 25. Ueber die Natur und Stärke der Säureabscheidung in den Nahrungsvakuolen von *Paramecium caudatum*. *Ztschr. wiss. Zool.*, 125, p. 313. — 30. **Nistler (A.).** Dispersitätsuntersuchungen an Farbstoffen. *Kolloidchem. Beihefte*, 31, p. 1. — 30. **Nigrelli (R.-F.) et Hall (R.-P.).** Osmiophilic and neutral-red-stainable inclusions of *Arcella*. *Trans. Amer. micr. Soc.*, 49, p. 18. — 26. **Neumann (A.).** Ueber makrochemische untersuchungen der Eosinophilen Granulasubstanz der Leucocyten mit Bemerkungen zur Begriffsbestimmung der « Eosinophilie » und zur Frage der Sauerstofforte. *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 3, p. 46. — 22. **Nicolle (M.) et Cesari (E.).** La phagocytose. *Ann. Inst. Pasteur*, 36, p. 669. — 22. **Noël (R.).** Recherches histophysiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. *Arch. Anat. micr.*, 19. — 28. **Northrop (J.-H.).** The permeability of dry collodion membrane (I). *J. gen. Physiol.*, 11, p. 233. — 29. (II). *Ibid.*, 12, p. 435. — 33. **Nouvel (H.).** Recherches sur la cytologie et l'histophysiologie des Dicyémides. *Ann. Inst. océanogr. Monaco* (en préparation).
27. **Okuneff (N.-V.).** Ueber die Oberflächenaktivität des Farbstoffs Trypanblau an verschiedenen Grenzflächen. *Bioch. Ztschr.*, 187, p. 37. — 28. Zur Frage nach der Bedeutung der Lipoidstoffe in der Zellpermeabilität. *Ibid.*, 198, p. 297. — 30. Zur Deutung einiger Erscheinungen der sogenannten physiologischen Permeabilität. *Trav. Lab. Zool. exp. Morph. anim.*, 1, p. 1. — 28. **Osterhout (W.), Damon (E.) et Jacques (A.).** Dissimilarity of inner and outer protoplasmic surface in *Valonia*. *J. gen. Physiol.*, 11, p. 193. — 19. **Ostwald (Wo.).** Kolloidchemische Studien am Kongorubin. *Kolloidchem. Beihefte*, 10, p. 179.
28. **Paillot (A.) et Noël (R.).** Recherches histophysiologiques sur divers tissus de *Bombyx mori* et de *Pieris brassicae*. *Bull. Hist. appl.*, ann. 1928. — 28. **Parat (M.).** Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme de la cellule animale. *Arch. Anat. micr.*, 24, p. 74. **BIBL.** — 29. Le chondriome actif de la cellule animale et le phénomène de pachy-

- nèse. *G. R. Ac. Sci.*, 188, p. 1517. — 30. Evolution phylo- et ontogénétique du vacuome, du chondriome actif et du « système » ou de la « zone de Golgi » de la cellule animale. *C. R. Ass. Anat.*, XXV. — 27. P. et Parat (Marg.). Vacuome et inversion des phases cytoplasmiques dans l'œuf d'Our sin activé. *C. R. Soc. Biol.*, 96, p. 1363. — 30. Essai d'analyse histo chimique et morphologique de la Zone de Golgi. *Arch. Anat. micr.*, 26, p. 447. *BIBL.* — 32. P. et Wou-Tseng-Cheng. Nature et origine des constituants cytoplasmiques de la cellule sexuelle mâle de Notonecte (Hémiptère). *C. R. Soc. Biol.*, 110, p. 543. — 10. Pelet-Jolivet (L.). Die Theorie des Farbpro zesses. Dresden. — 27. Pfeiffer (Hans). Ueber Mitwirkung electro kapil larer Effekte bei der Vitalfärbung pflanzlicher und tierischer Protoplasten. *Biol. Zentralbl.*, 47, p. 201. *BIBL.* — 00. Plato (J.). Ueber die vitale Färb barkeit der Phagozyten. *Arch. mikr. Anat.*, 56, p. 868. — 24. Pohle (Ernst). Ueber die Resorption und Exkretion saurer und basischer Farb stoffe beim Warmbluten. *Pflüg. Arch.*, 203, p. 558. — 26. Policard. Sur le degré d'épaisseur des lames protoplasmiques dans les cellules étalées des cultures *in vitro* d'histiocytes. *C. R. Soc. Biol.*, 94, p. 197. — 26. Pon der (Eric). A contribution to the theory of phagocytosis. *J. gen. Physiol.*, 9, p. 827. — 97. Prowazek (S.). Vitalfärbungen mit Neutralroth an Pro tozoen. *Ztschr. wiss. Zool.*, 2, p. 187. — 32. Py (G.). Recherches cytologi ques sur l'assise nourricière des microspores et les microspores des Plan tes vasculaires. Thèse Sci., Paris.
31. Quastel (J. H.). The action of dyestuffs on enzymes (II). Fumarase. *Bioch. J.*, 25, p. 898. — 31. Q. et Wheatly (H. M.). The action of dyestuffs on enzymes (I). Dyestuffs and oxidations. *Ibid.*, p. 629. — 26. Quintani lha (A.). O problema das plantas carnivoras. *Bol. da Soc. Brotcriana*, 4, 2^e série.
- 30 Radu (V.). Structure histologique et cytologique du canal déférent chez *Armadillidium vulgare* Latr. *Arch. Zool. exp. et gén.*, 70, p. 1. — 27. Reh binder (P.). Ueber Grenzflächenaktivität bzw.-energie an verschiedenen Grenzflächen usw. *Bioch. Ztschr.*, 187, p. 19. — 26. Robertson (B. T.). The function of lipoid in mitochondria. *Austral. J. exp. Biol. a. med. Sci.*, 3, p. 97. — 07. Roëssle. Ueber Phagozytose von roten Blutkörperchen durch Parenchymzellen usw. *Ziegl. Beitr.*, 41, p. 181. — 24. Ruhland (W.). Vital färbung bei Pflanzen. In *Abderh. Handb. biol. Arb.* Abt. 11, 2 (Lief. 50), p. 187. — 25. R. et Hoffmann (C.). Die Permeabilität von *Beggiatoa mira bilis*. *Planta*, 1, p. 1. *BIBL.* — 28. Rumiantzeff (A.). Cytologische Studien an den Gewebskulturen *in vitro* (III). Ueber einige gleichartige morpholo gische Erscheinungen bei Speicherung von Tusche, Farbe und Osmium säure in den Gewebenzellen. *Zts. Zellf. u. mikr. Anat.*, 6, p. 726. — 26. R. et Kedrowski (B.). Untersuchungen über Vitalfärbung einiger Pro tolisten. *Protopl.*, 1, p. 189.
31. Saedeleer (H. de). Comportement de la vésicule contractile de *Naegleria sp.* Dissociation du complexe vacuolaire à l'interphase, pendant la zoospo rulation et au cours de l'enkystement. *C. R. Soc. Biol.*, 106, p. 616 — 31. S. et Wolff (E.). La genèse de la vésicule contractile chez une Amibe d'eau douce ... etc. *Ibid.*, pp. 612 et 614. — 04. Saint-Hilaire (C.) Unter suchungen über den Stoffwechsel in der Zelle und den Geweben (II). *Trav.*

- Soc. Imp. Nat. St-Petersb.*, 34, p. 21 (III). *Schr. naturw. Ges. Univ. Jurjeff*, 15. — 10. Beobachtungen über die intrazelluläre Verdauung in den Darmzellen der Planarien. *Zts. allg. Physiol.*, 11, p. 177. — 29. Sawelsohn. Untersuchungen über die Speicherung einiger Vitalfarbstoffe in den Leberzellen. *Zts. Zellf. u. mikr. Anat.*, 8, p. 602. — 22. Schoneboom (C.-G.). Diffusion and Intertraction. *Proc. Roy. Soc. (A)*, 101, p. 531. — 17. Schultze (W.). Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für Anatomie, Physiologie, Pathologie und Pharmakologie. *Bioch. Ztschr.*, 80. — 26. Seifriz (W.). Elasticity as an indicator of protoplasmic structure. *Amer. Natur.*, 60, p. 124. *BIBL.* — 08. Selensky (W.). Untersuchungen über die sogenannte Urnen der Sipunculiden. *Zts. wiss. Zool.*, 90, p. 536. — 23. Seo (T.). Neue Versuche zur Theorie der Vitalfärbung. *Pflüg. Arch.*, 201, p. 603. — 31. Sigot (A.). Existence de plaquettes osmiophiles péristagellaires chez *Euglena gracilis* Klebs; leur valeur cytologique. *C. R. Soc. Biol.*, 106, p. 1069. — 22. Slonimski (P.) et Zweibaum (I.). Sur quelques conditions de coloration vitale des Infusoires. *Ibid.*, 86, p. 71. — 22. Sur l'excrétion des colorants vitaux par les Infusoires. *Ibid.*, p. 98. — 31. Spek (J.). Die Zelle als morphologisches system. *Gellhorn's Lehrb. allg. Physiol.* (IV^e partie). — 29. Steward (F.-C.). Phosphatides in the limiting protoplasmic surface. *Protopl.*, 3, p. 602. *BIBL.*
20. Tait (J.). Capillary phenomena observed in blood cells : thigmocytosis, phagocytosis, amœboid movement, etc. *Q. J. exp. Physiol.*, 12, p. 1. — 30. Tchéou-Taï-Chuin. Le cycle du Scyphistome de *Chrysaora* (Etude histo-physiologique). Thèse Sci. Paris. — 29. Teissier (G.) et Volkonsky (M.). Sur les pigments de *Sertularella* (Hydraire) et de *Clathrina* (Eponge). Etude comparée. *Bull. Soc. Zool. France*, 54, p. 599. — 31. Thomas (J.-A.). Recherches sur les vésicules énigmatiques et les urnes du Siponcle. La reproduction par bourgeonnement. *C. R. Ac. Sci.*, 193, p. 1462. — 32. La culture des vésicules énigmatiques et des urnes du Siponcle. *C. R. Soc. Biol.*, 110, p. 451. — 32. Recherches cytologiques et expérimentales sur les vésicules énigmatiques et les urnes des Siponcles. *Arch. Zool. exp. et gén.*, 73, p. 22. — 28. Traube (J.) et Dannenberg (F.). Ueber das Permeabilitätsproblem. *Bioch. Ztschr.*, 198, p. 208. *BIBL.* — 25. T. et Yukimura (S.). Lipoidtheorie und Oberflächenaktivitätstheorie (II). *Ibid.*, 157, p. 383. — 31. Tuzet (O.). L'appareil parabasal et les dictyosomes chez *Reniera simulans* Johnston et *Hymeniacidon sanguinea* Grant. *C. R. Ac. Sci.*, 192, p. 698. — 32. Recherches sur l'histophysiologie des Eponges *Reniera elegans* et *R. simulans*. *Arch. Zool. exp. gén.*, 74, p. 169
29. Umrath (K.). Zell- und Gewebspotentiale. *Koll. chem. Beihefte*, 28, p. 259.
28. Volkonsky (M.). Sur une nouvelle modification de la technique d'Altmann. *Bull. Hist. appl.*, 5, p. 220. — 29. Les phénomènes cytologiques au cours de la digestion intracellulaire de quelques Ciliés. *C. R. Soc. Biol.*, 101, p. 133. — 29. Les choanocytes des Eponges calcaires. *Ibid.*, 102, p. 664 et 759. — 30. 103, p. 668. — 30a. Eponges calcaires. La cinétide des cellules de *Clathrina coriacea* Mont. *Bull. Soc. Zool. France*, 55, p. 183. — 30b. Les constituants cytoplasmiques des urnes des Sipunculidés. *C. R. Soc. Biol.*, 105, p. 547. — 30c. Les constituants cytoplasmiques de *Polytoma uvella*, etc. *Ibid.*, pp. 619, 624 et 680. — 31. *Hartmannella castellanii* et la classifica-

tion des Hartmannelles *Arch. Zool. exp. gén.*, 72, p. 317. — 32. Culture de *Saprolegnia* sp. en milieu synthétique. Son alimentation sulfurée, etc. *C. R. Soc. Biol.*, 109, pp. 528 et 614.

28. Weech (A.-A.) et Michaelis (L.). Studies on Permeability of membranes (V). *J. gen. Physiol.*, 12, p. 55; (VI). *Ibid.*, p. 221. — 28. Wermel (E.) et Zassuchin (A.). Untersuchungen über die Kernsubstanzen und die Methoden ihrer Darstellung (II). *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 6, p. 424. *BIBL.* — 24. Wertheimer (E.). Ueber den Einfluss von Ionen auf Farbstoffe und die Anfärbbarkeit von Gewebe. *Pflüg. Arch.*, 202, p. 383. — 28. Willstätter. Untersuchungen über Enzyme. Berlin. *BIBL.*

32. Zirckle (C.). Vacuoles in primary meristems *Ztschr. Zellf. u. mikr. Anat.*, 16, p. 26. — 18. Zsigmondy (R.). Kolloidchemie. Leipzig. — 24. Ueber den Zerteilungszustand hochmolekularer Farbstoffe in wässriger Lösung (mit exp. Daten von F. Beger u. E. Joël). *Ztschr. phys. Chemie*, 111, p. 211. — 26. Zweibaum (J.) et Elkner (A.). Sur le système vacuolaire dans les éléments cellulaires du tissu conjonctif cultivé *in vitro*. *Arch. exp. Zellf.*, 3, p. 231. — 30. Les structures cytoplasmiques et l'appareil de Golgi dans les cellules cultivées *in vitro*. *Ibid.*, 9, p. 419.

ADDENDUM :

29. Homès (M.). Modifications cytologiques au cours du fonctionnement des organes sécrétoires chez *Drosera*. *Mém. Ass. Roy. Belgique* (2^e s., 10).

29. Mangenot (G.) Sur les phénomènes de fragmentation du vacuome dits d'« aggragation ». *Arch. Anat. micr.*, 25, p. 507.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 27 janvier 1933.

C. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

PLANCHE IV

PLANCHE IV

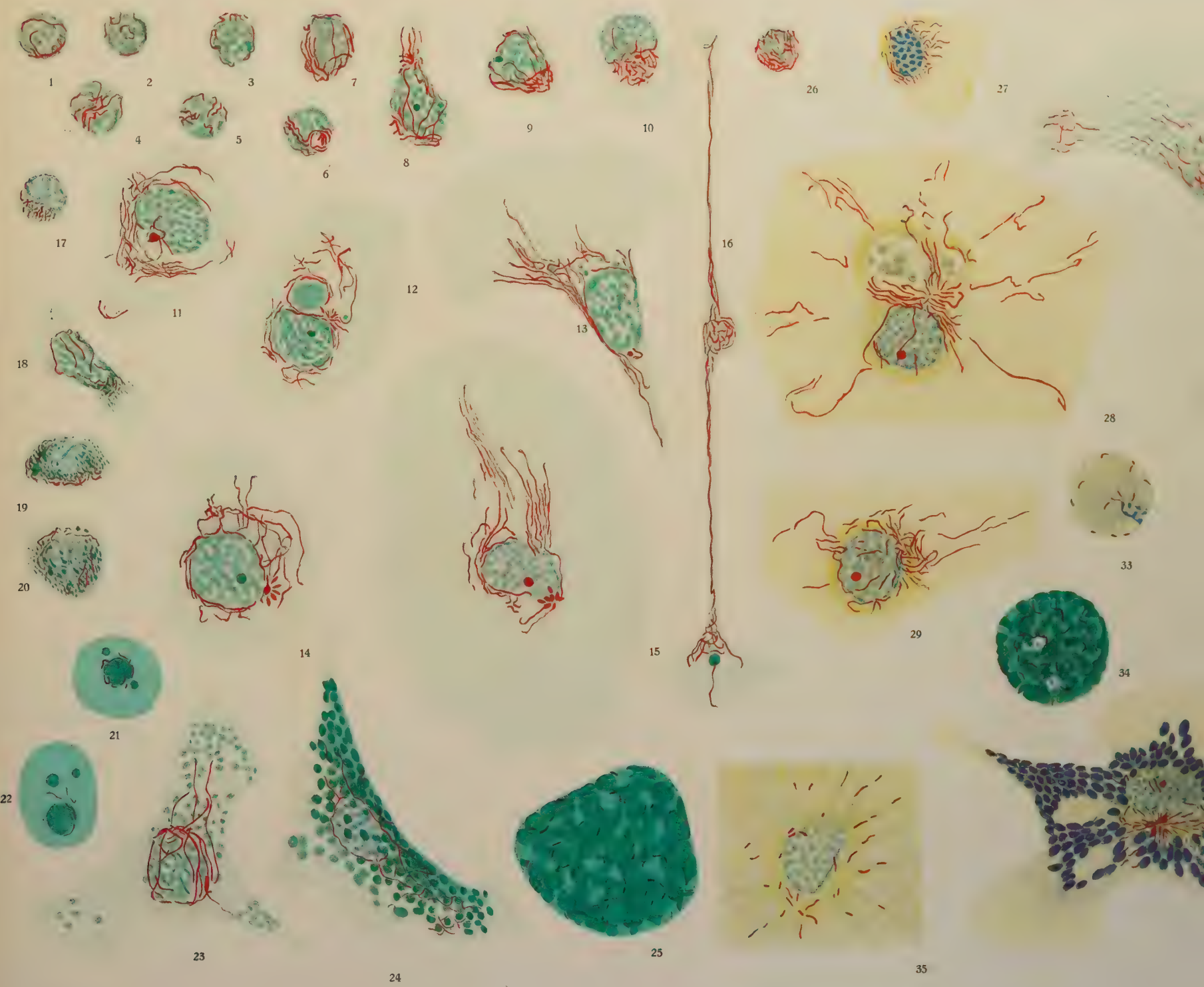
*Fixation : B. O. S. U. ; coloration : 1 à 26, 30 et 34, rubine-vert lumière ;
27 à 33 et 35, coloration d'Allmann modifiée.*

1 à 25, cellules sanguines de Sipunculus nudus.

- 1, 2, 3, lymphocytes : 1 et 3, vus par le côté ; 2, vu du côté opposé au cyto-centre : 4, vu du côté du cytocentre.
5 à 15, évolution des amibocytes hyalins : 5, 6, petits hyalins ; 7 à 10, stades intermédiaires (noter l'accroissement de l'amas chondriosomique) ; 11 à 15, différenciation du chondriome central et sa transformation en lépidosomes ; 13, l'amas chondriosomique central, non aplati, est inanalysable ; 14, le noyau de l'amibocyte est fortement aplati contre la lamelle ; 16, disposition du chondriome dans un prolongement protoplasmique d'un amibocyte fortement étiré.
17 à 20, évolution des petits granulocytes (noter l'indépendance entre granulations spécifiques et chondriome).
21 et 22, érythrocytes (de petite taille, « microcytes »).
23 et 24, grands granulocytes (G_1 et G_2).
25, cellule sphéruleuse (S_2).

26 à 35, cellules sanguines de Phascolosoma vulgare

- 26, lymphocyte ; 27, amibocyte hyalin.
28 à 31, grands granulocytes au stade un (G_1) : dans 28, 29 et 31, les grains spécifiques ne sont pas colorés ; 31, aster chondriosomique fortement développé dans un granulocyte binucléé.
32, grand granulocyte à gros grains (G_2) (noter la présence de lépidosomes).
33, partie centrale d'une cellule de vésicule énigmatique.
34, cellule sphéruleuse acidophile ; 35, cellule sphéruleuse basophile.
-



Volkonsky del.

Cellules sanguines de Siponculiens

PLANCHE V

PLANCHE V

Colorations vitales : 1 à 3, 5 à 10, 12, 13, 15, 18, 20 et 21, rouge neutre ; 4, 11, 14 et 16, bleu de crésyle brillant ; 17 et 22, bleu de toluyène ; 19, rouge neutre-vert Janus.

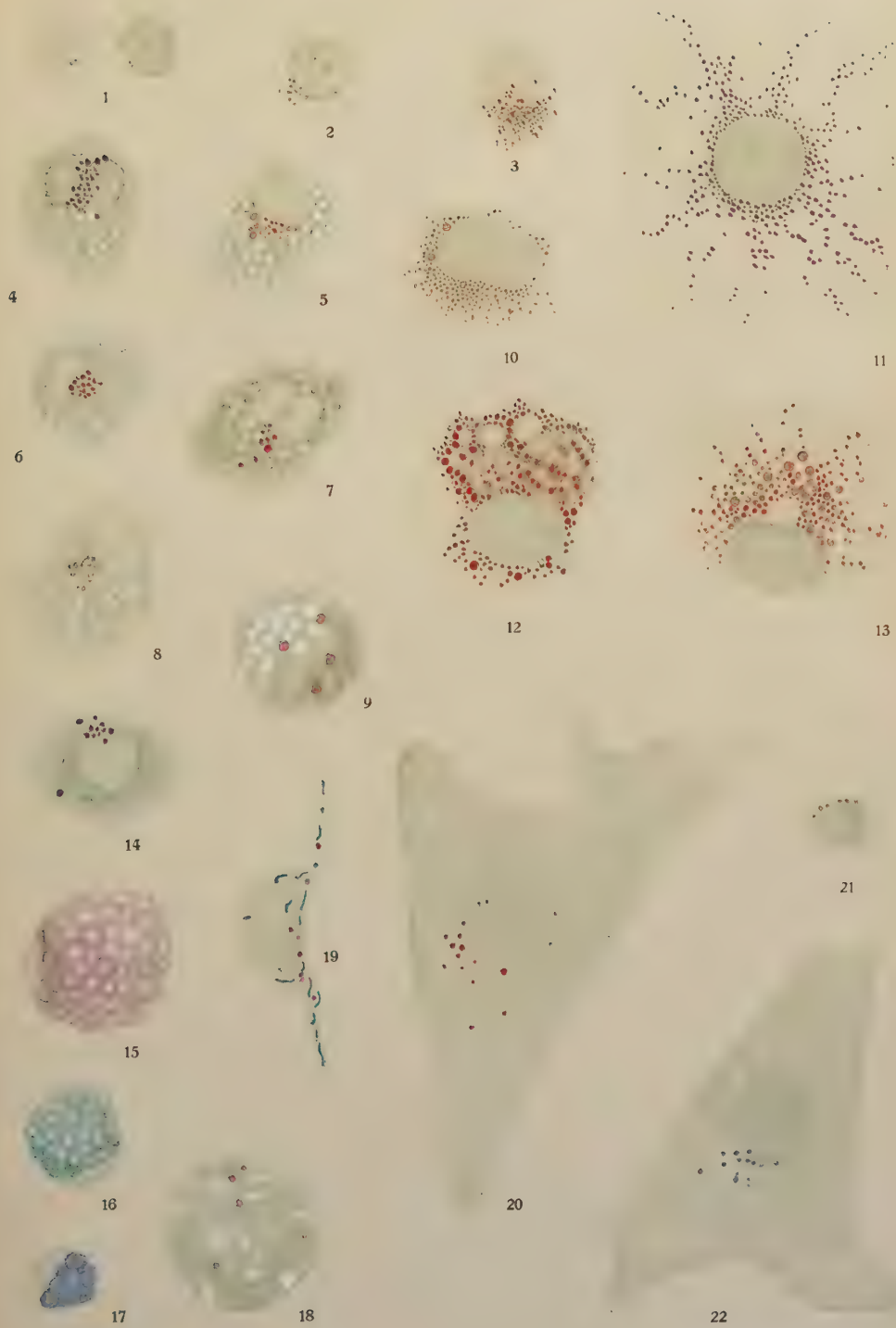
1 à 15, cellules sanguines de Sipunculus nudus.

- 1, lymphocytes ;
- 2, petit amibocyte hyalin ;
- 3, stade de transition ($h \rightarrow H$) ;
- 4, 6, 7, 8 et 14, petits granulocytes ;
- 5, cellule sphéruleuse au stade amiboïde (S_i) ;
- 9, cellule sphéruleuse immobile (S_2) ;
- 10-13, différents aspects du vacuome des grands amibocytes.

15 à 22, cellules sanguines de Phascolosoma vulgares.

- 15 et 16, cellules sphéruleuses acidophiles (S_a) ;
- 17 et 18, cellules sphéruleuses basophiles (S_b) ;
- 19, coupe optique d'une cellule d'une vésicule énigmatique ;
- 20 et 22, grandes granulocytes (G_2) ;
- 21, jeune amibocyte hyalin.

N. B. Pour des raisons d'ordre technique, dans les figures 11, 12 et 13 la différence de ton entre les vacuoles les plus grosses et les vacuoles les plus fines n'a pu être indiquée sur la reproduction.



Volkonsky del.

Cellules sanguines de Siponculiens

PLANCHE VI

PLANCHE VI

1 à 10, *Phagocytose*.

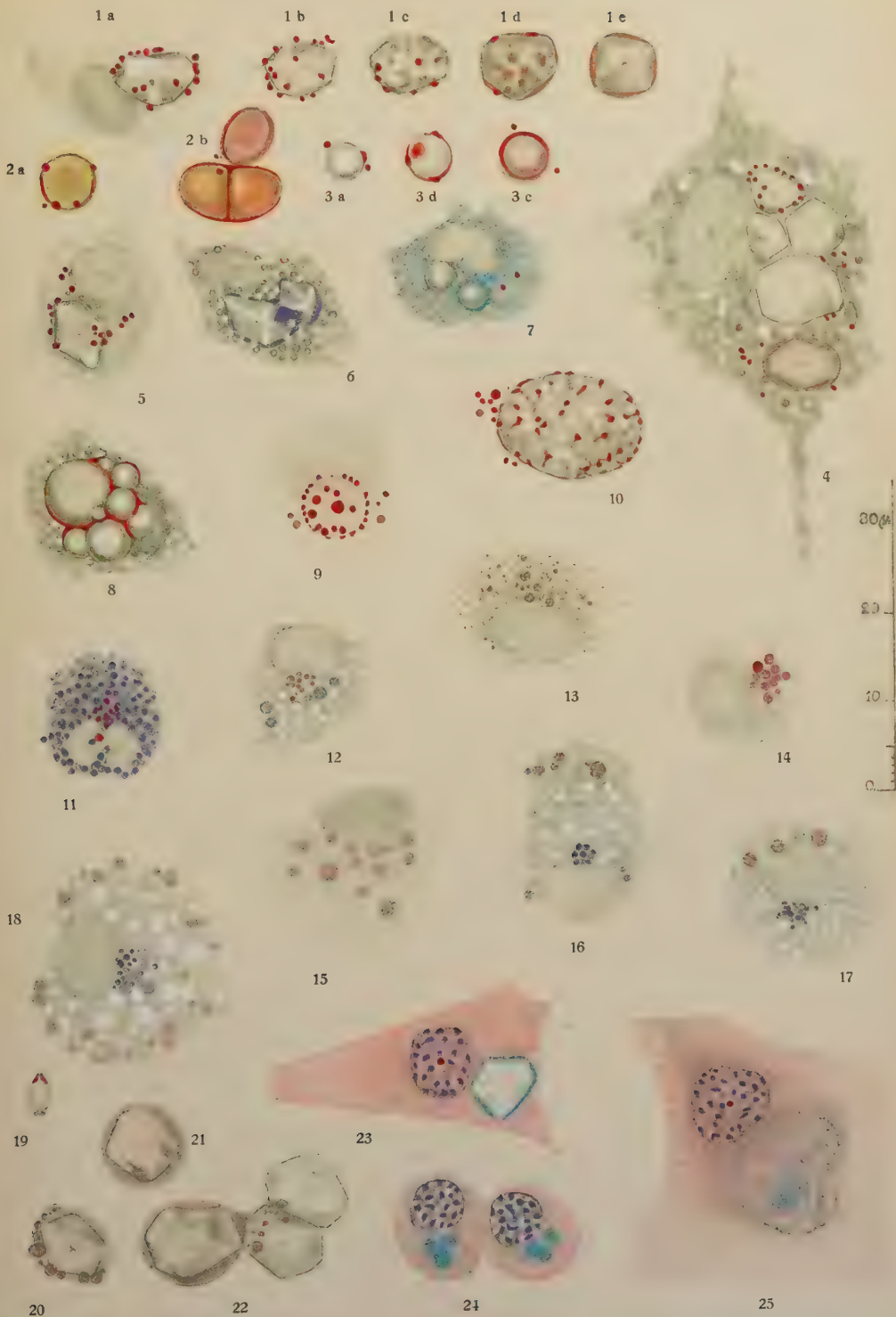
Colorations vitales : 1 à 5, 8 à 10, rouge neutre ;
6 et 7, bleu de crésyle brillant.

1. — (*a, b, c, d, e*), réaction vacuolaire en présence d'un grain d'amidon de riz phagocyté (dans les hyalins de *Phascolosome*) : 1*a*, attraction du vacuome ; 1*b, c et d*, stades successifs de la diffusion des substances constitutives du vacuome à travers la paroi de la progastriole ; 1*e*, gastriole définitivement constituée.
2. — (*a, b*), réaction vacuolaire en présence d'hématies de mouton.
3. — (*a, b, c*), réaction vacuolaire en présence de globules de lait.
4. — Grand granulocyte (G_2) de *Phascolosome* contenant des grains d'amidon de riz à différents stades d'envacuolement (noter la présence, parmi les vacuoles, d'éléments plus gros et moins colorés qui ne participent pas au phénomène).
5. — Amibocyte hyalin de *Sipunculus* contenant un grain d'amidon (début de la réaction vacuolaire).
6. — Petit granulocyte (g_2) de *Sipunculus* contenant deux grains d'amidon de riz dans une gastriole commune.
7. — Petit granulocyte (g_2) de *Phascolosoma* contenant 2 globules de lait (« rosette » et gastriole).
8. — Petit granulocyte (g_2) de *Sipunculus* contenant de nombreux globules de lait dans une gastriole commune.
9. — Partie centrale d'un grand hyalin de *Sipunculus* ayant ingéré une cellule sanguine (lymphocyte ?) ; stade rosette.
10. — Petit granulocyte (g_2) de *Sipuncle* ingéré par un grand hyalin ; réaction vacuolaire.

11 à 25, *Chromopexie*.

Colorations vitales : 11, 12, trypanoblu-rouge neutre : 13, Vitalneurot ; 14, bordeaux rouge R ; 15, 19-22, carmin lithiné (Orth) ; 16-18, carmin lithiné-bleu de crésyle brillant ; 23-25, fixation de Duboscq-Brasil, réaction du bleu de Prusse, coloration au glychémalun-fuchsine acide.

- 11, 12, petits granulocytes de *Sipunculus* : 11, coloration des grains spécifiques par le trypanoblu ; 12, chromopexie du tripanoblu.
- 13, floculation du Vitalneurot dans un petit hyalin de *Sipunculus*.
- 14, grosses vacuoles chromopexiques dans un petit hyalin de *Sipunculus*.
- 15, chromopexie centrale dans un petit hyalin de *Sipunculus* (noter le vacuome visible sans coloration et indépendant des vacuoles chromopexiques).
- 16, 17, chromopexie périphérique dans de petits granulocytes (g_2) de *Sipunculus*.
- 18, chromopexie périphérique dans une cellule basophile amiboïde (S_1) de *Sipunculus*.
- 19, coloration vitale de l'acrosome d'un spermatozoïde de *Sipunculus*.
- 20-22, rapport entre les vacuoles chromopexiques et les gastrioles.
- 23-25, accumulation du saccharate de Fer (chez le *Phascolosome*) : 24, jeunes hyalins ; 23 hyalin contenant une gastriole à amidon ; 25, grand granulocyte (G_1) contenant une gastriole à érythrocyte de *Phascolosoma*.



Volkonsky del.

Cellules sanguines de Siphonculiens

PLANCHE VII

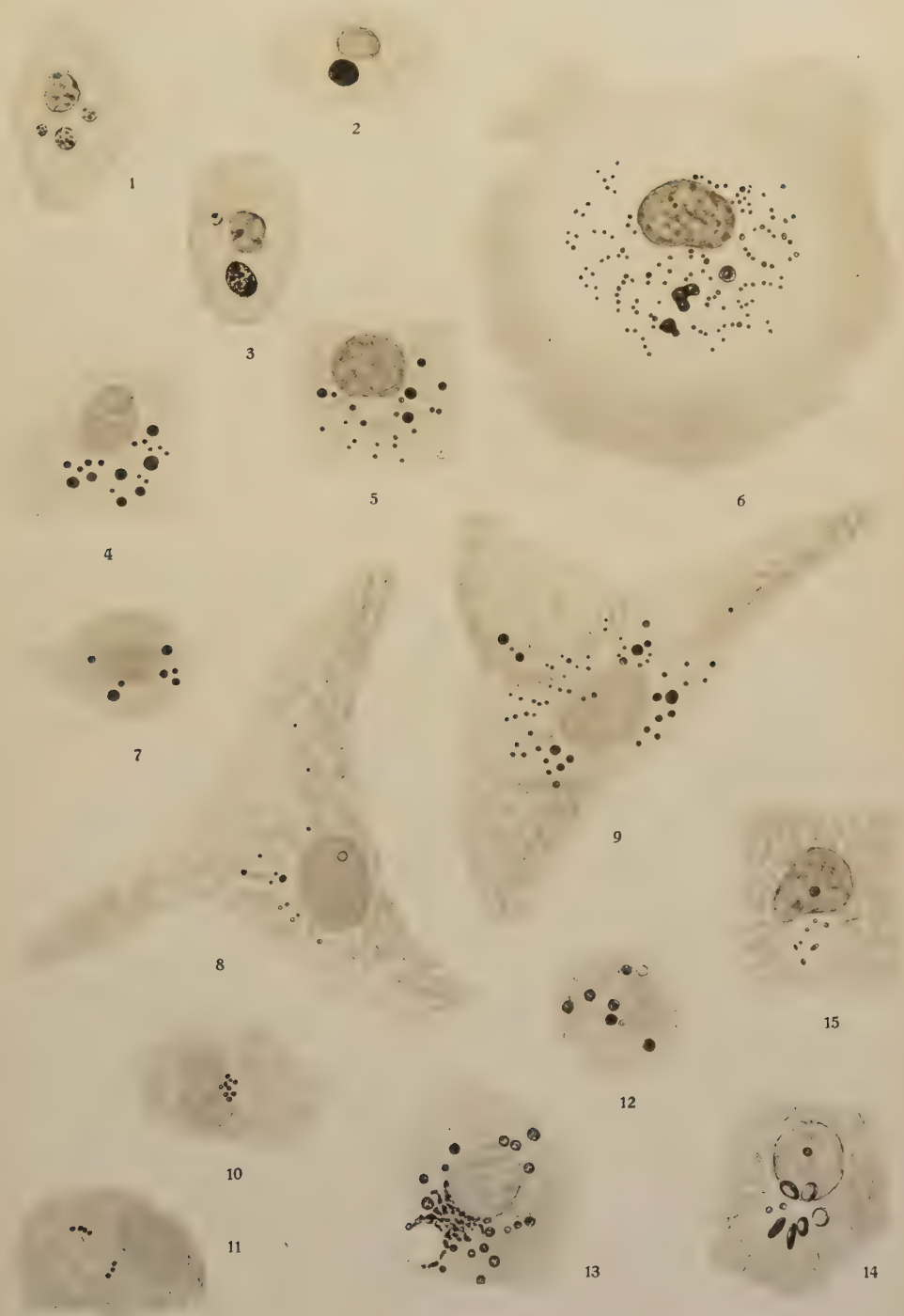
PLANCHE VII

Imprégnation osmique (technique de Mann-Kopsch). Imprégnation élective du vacuome, sauf : 13, imprégnation mixte du vacuome et du chondriome central, et 14, imprégnation des lépidosomes et du vacuome.

1 à 3, 6, 10 à 12, cellules sanguines de Sipunculus nudus.

4, 5, 7 à 9, 13 à 15, cellules sanguines de Phascolosoma.

1 à 3, érythrocytes (différents degrés d'imprégnation du vacuome) ;
4, 5, grands granulocytes à petits grains (G_1) ;
6, amibocyte hyalin ; 7, petit granulocyte (g_2) ;
8, 9, grands granulocytes à gros grains (G_2) ;
10, 11, petits granulocytes (g_2) ;
12, cellule sphéruleuse jeune (S_1) ;
13, grand granulocyte (G_1) (imprégnation mixte) ;
14, 15, grands granulocytes (G_2) : 14, imprégnation des lépidosomes et de deux vacuoles ; 15, imprégnation élective du vacuome.



Volkonsky del.

Cellules sanguines de Siphonculiens

PLANCHE VIII

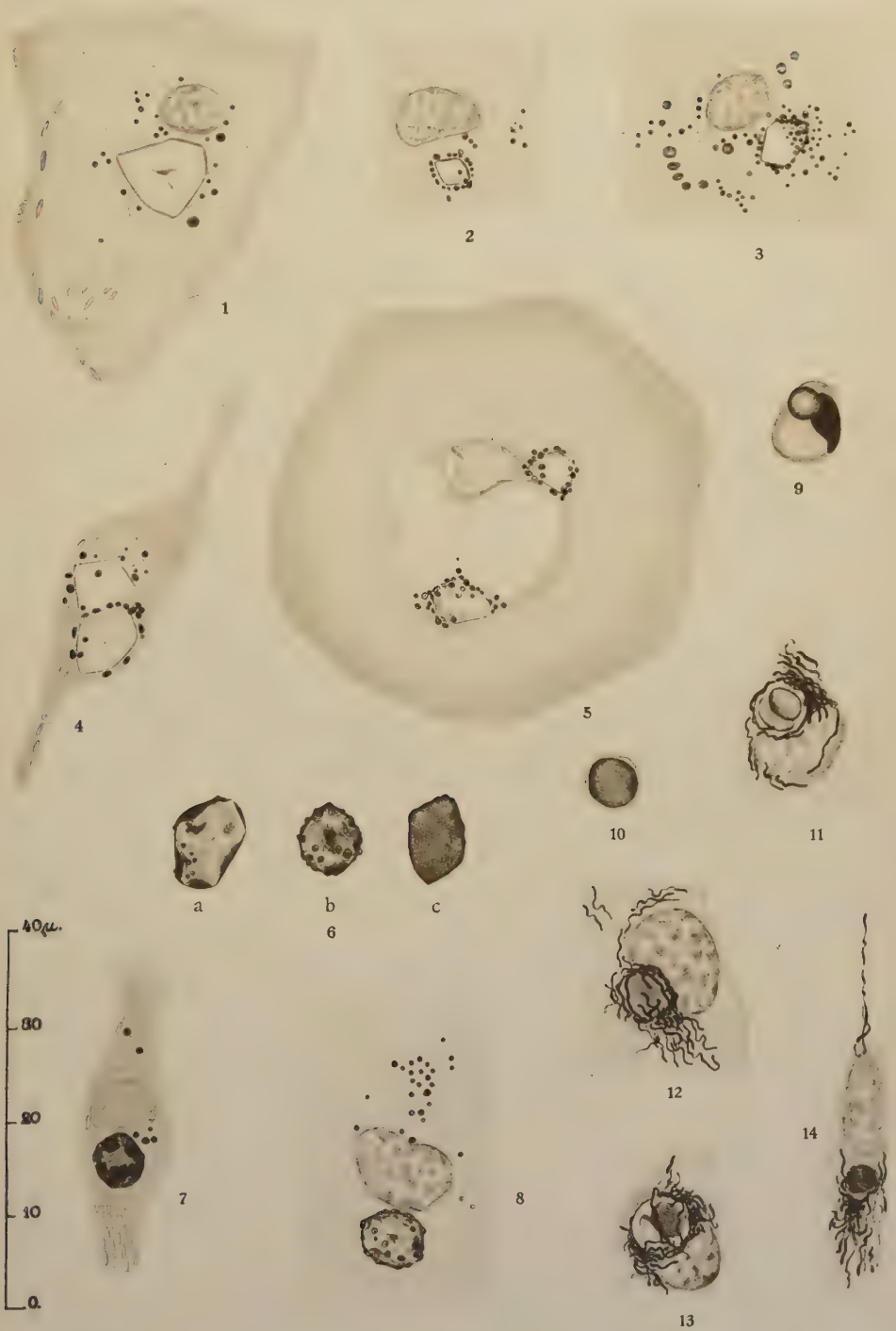
PLANCHE VIII

1 à 8, réaction vacuolaire dans les amibocytes, en présence de grains d'amidon de riz phagocytés; technique d'imprégnation osmique de Mann-Kopsch.

- 1, grand granulocyte de *Phascolosoma*; premier stade : le vacuome est indifférent.
- 2 et 3, amibocytes hyalins de *Sipunculus*; attraction élective des petits éléments du vacuome (stade « rosette »).
- 4, grand granulocyte de *Phascolosoma* (stade « rosette »).
- 5, amibocyte hyalin de *Sipunculus* (stade « rosette »; comparer avec la fig. 6, Pl. 3).
- 6, a, b, c, trois stades successifs de la réaction vacuolaire.
- 7, grand granulocyte de *Phascolosoma* (formation de la gastriole).
- 8, amibocyte hyalin de *Sipunculus* (début de la diffusion des substances vacuolaires).

9 à 14, réaction vacuolaire et comportement du chondriome en présence d'hématies phagocytées; fixation au B. O. S. U., coloration à la rubine-vert lumière.

- 9, bol alimentaire d'origine synthétique (hématies à des stades différents de digestion);
 - 10, réaction vacuolaire en présence d'une hématie (hématierouge; vacuome-vert).
 - 11 à 14, rapports entre les gastrioles et le chondriome (amibocytes hyalins de *Sipunculus*).
-



Volkonsky del.

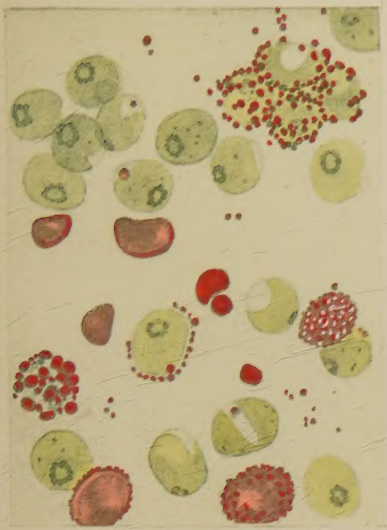
Cellules sanguines de Sipunculians

PLANCHE IX

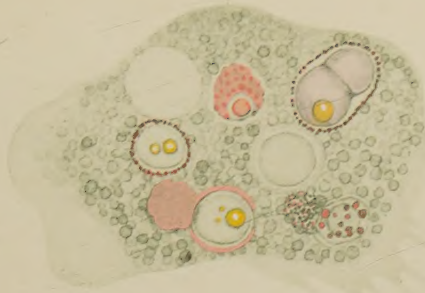
PLANCHE IX

Différents aspects de la réaction vacuolaire dans des cellules phagocytaires et des Protozoaires (1, coloration au rouge neutre, fixée; le reste, colorations vitales examinées sur le frais : 2 à 7, 9, 10 et 15, rouge neutre; 8, bleu de crésyle brillant; 11 à 14, brun Bismarck).

1. — Digestion des Chlorelles dans un frottis cytoplasmique de *Stentor polymorphus*.
 2. — Digestion de levures (*Cryptococcus parvoseus*) par *Acanthamoeba castellanii*.
 3. — Digestion de muscle de poisson (et de bactéries?) par *Entamoeba dysenteriae*.
 4. — Ovocyte amiboïde de *Sycon coronatum*, ayant ingéré une Diatomée et une cellule d'Eponge (fragment d'un « film vital »).
 5. — *a, b* et *c*, coupes optiques transversales d'un choanocyte de *Clathrina coriacea*, ayant ingéré un grain d'amidon de riz; 3 dessins successifs faits à intervalles d'une heure (pris dans un « film » dessiné de 15' en 15').
 6. — Choanocyte de *Sycon ciliatum*, chargé de grains d'amidon de riz réunis dans une gastriole unique.
 7. — Choanocytes de *Sycon raphanus* devenus amiboïdes entre lame et lamelle; formation de gastrioles autour de globules de lait.
 8. — Choanocytes de *Grantia compressa*, contenant trois globules de lait à des stades d'envacuolement différents : à gauche, stade « rosette »; au milieu, diffuence du vacuome (stade réticulaire); à droite, gastriole achevée.
 9. — Choanocyte de *Leucosolenia complicata*; réaction vacuolaire au contact d'une hématie d'homme (l'hématie est fortement rétractée sous l'action du milieu hypertonique).
 10. — Choanocyte de *Clathrina coriacea* à l'état amiboïde; gastriole à encre de Chine: grains oxylipoïdiques de porocytes, phagocytés et colorés en rouge foncé.
 - 11-14. — Virage de grains de tournesol phagocytés par des choanocytes de *Clathrina coriacea*: 14, le grain (bleu-violet dans l'eau de mer) a viré au rose, après ingestion; 13, attraction du vacuome; 12, début du virage; 11, le virage est complet.
 15. — *a, b, c*, trois stades de formation de gastrioles autour de globules de lait phagocytés dans *Bonnellia viridis*.
-



1



2



3



4



5 a



5 b



5 c



9



11



12



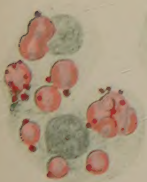
13



10



6



7



8



15 a



15 b



15 c

0 10 20 30 μ

Volkonsky del.

Phagocytose (Protozoaires, Amœbocytes, Choanocytes)

